

SM 20

**GASCHROMATOGRAPHISCHE BESTIMMUNG
VON SCHWERMETALLEN IN
BIOLOGISCHEM MATERIAL**

Karlheinz Maier

1981

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universität
München

Direktor: Professor Dr.med. W.Spann

GASCHROMATOGRAPHISCHE BESTIMMUNG
VON SCHWERMETALLEN
IN BIOLOGISCHEM MATERIAL

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Karlheinz Maier

aus
Aulendorf

1981

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Spann
Dekan: Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 26.5.1981



Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Rechtsmedizin der Ludwig Maximilians-Universität München angefertigt.

Herrn Professor Dr. W. Spann möchte ich für die Überlassung des Themas und die Arbeitsmöglichkeit am Institut danken.

Herrn Dr. G. Drasch danke ich für seine Hilfsbereitschaft und seine freundliche Unterstützung. Er stand stets mit Rat und Tat zur Seite. Ich bin ihm zu großer Dankbarkeit verpflichtet.

Herrn Professor Dr. N. Weger und Mitarbeitern im Institut für Pharmakologie und Toxikologie danke ich. Sie ermöglichten die Tierversuche.

Herrn Professor Dr. M. Knedel und Herrn Priv. Doz. Dr. Dr. K. Jacob, Institut für klinische Chemie des Klinikums Großhadern, danke ich für die Hilfe bei der Massenspektrophotometrie.

INHALTSVERZEICHNIS

1.	Einleitung	1
2.	Allgemeiner Teil	2
2.1.	Chromatographische Trennverfahren und Nachweismethoden in der Spurenelementanalyse	2
1.	Dünnschichtchromatographie	2
2.	Flüssigkeitschromatographie und Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie	7
3.	Gaschromatographie	8
3.1.	Gaschromatographie von Metallchelaten	9
3.2.	Gaschromatographie von Hydriden	12
3.3.	Gaschromatographie von Elementen	13
2.2.	Natriumdiäthylthiocarbamidat	14
1.	Herstellung	14
2.	Anwendung	16
3.	Thermographimetrische Untersuchungen	22
3.	Eigene Untersuchungen	26
3.1.	Vorbereitungen	26
1.	Herstellen der Reagentien	26
2.	Lösungsmittel	27
3.	Wasserstoffionenkonzentration	29
4.	Extraktionsvorschrift	32

3.2. Gaschromatographie	33
1. Arbeitsbedingungen	33
2. Erzielte Nachweise	38
3. Nachweis in biologischem Material	39
3.3. Kováts-Indizes	40
3.4. Massenspektrophotometrie	42
3.5. Ein Anwendungsbeispiel: Thallium	51
1. Thallium	51
2. Thalliumvergiftung	53
3. Nachweis der Thalliumvergiftung	55
4. Gaschromatographie des Thallium- chelats	56
5. Eichung	60
6. Tierversuch	63
4. Schlußbetrachtung	70
5. Zusammenfassung	73
6. Literaturverzeichnis	74

1. E I N L E I T U N G

Mit den großen Fortschritten der organischen Chemie wurden auch immer feinere Nachweismethoden für organische Stoffe entwickelt.

Die Gaschromatographie ist eine solche Methode. Sie ist sehr empfindlich und leicht anzuwenden. In den letzten Jahren wurden bei ihrer Anwendung große Fortschritte erzielt. Damit ist die organische Chemie zu Nachweisgrenzen vorgedrungen, wie sie die Methoden der anorganischen Chemie besitzen.

Im Grenzgebiet zwischen organischer und anorganischer Chemie liegt die Möglichkeit, Metalle in ihren organischen Verbindungen im Gaschromatographen zu trennen und nachzuweisen. Der Wunsch, die Vorteile der Gaschromatographie für den Metallenachweis anzuwenden, scheint erfüllbar.

In der vorliegenden Arbeit wird dieses Arbeitsgebiet beschrieben. Die Bedingungen, unter denen Schwermetalle aus organischem Material extrahierbar und chromatographierbar sind, werden gezeigt. Im Vordergrund stehen Metalle, die toxikologisch wichtig sind. Ein Anwendungsbeispiel schließt sich an.

2. A L L G E M E I N E R T E I L

2.1. Chromatographische Trennverfahren und Nachweismethoden in der Spurenelementanalyse

2.1.1. Dünnschichtchromatographie

Eine Methode zur Trennung und zum qualitativen Nachweis von Metallen in geringen Konzentrationen ist die Dünnschichtchromatographie (DC). Der qualitative Nachweis erfolgt nach der Trennung durch bekannte spezifische Detektionsmethoden (59). Anschließend kann sich eine quantitative Untersuchung zum Beispiel durch spektralphotometrische Messung (3). Nach WALDI (70) kommen drei Verfahren in Frage:

1. Die DC von Metallsalzen, die bei der Mineralisation der organischen Probe entstehen, auf reinsten Kieselgelschichten.
2. Die DC der Metalle als Chelate.
3. Die DC von Metallionen auf Zellulosepulverdünn-schichten, wie bei der Papierchromatographie.

Die DC von Metallchelaten wird von vielen Autoren mit den unterschiedlichsten Komplexbildnern beschrieben. Ein Überblick gibt die Abbildung 1.

Abb. 1: Trennung von Metallchelaten durch Flüssig-Chromatographie. Nach KÖNIG et al. (35).

Ligand	Metall	Me- thode	Lit.
Äthylendiamin-tetraacetat (ÄDTA)	Cd, Cr, Fe, Hg, Mn, Ni, Zn	D	22, 32
1,2-Bis-(4-subst.)-thiosemicarbazon	Cd, Cu, Hg, Zn u. a.	D	1, 24
1,2-Bis-thiobenzhydrazon	Cd, Cu, Hg, Zn u. a.	D	16
Dithiocarbamat	Cd, Co, Fe, Hg, Mn, Ni, Zn u. a.	D	3, 25
Dithizon	Ag, Au, Bi, Cd, Hg, Pb, Pd, Pt, Zn u. a.	S	8, 17
4-Hexachlornorbornylthiosemicarbazid	Os, Ru	D	1, 2
8-Hydroxy-chinolin	Al, Ba, Be, La, Zn	D	29
2-Methyl-8-hydroxy-chinolin	Cr, Cu	S	6, 7,
7-Allyl-8-hydroxy-chinolin	Al, Cd, Cu, Pd, Zn	D	18
8-Mercapto-chinolin	Cr, Cu, Fe, Ni	S	7
α -Nitroso- β -naphtol	Co, Fe, Mn, Ni	D	27
Pyridin-2-aldehyd-2-chinolin-hydrazon (PAC)	Cr, Cu, Fe, Ni	D	12
1-(Pyridylazo)-2-naphtol (PAN)	Co, Cu, Fe, Ni	D	14
Salicylaldehyd	Co, Cu, Bi, Fe, Mn, Ni	D	28
Trifluoracetylaceton	La, Nd, Sm	D	30
Xanthogenat	Co, Fe, Hg, Mn, Ni, Zn u. a.	D	25, 26

D:Dünnschicht; S:Säule.

Literaturangaben zur Abb. 1. Nach KÖNIG et al. (35)

1. Bailschmitter, K.: Habilitationsschrift, Mainz 1970.
2. -- J.Chromatog.Sci. 8,496(1970).
3. -- Z.Anal.Chem. 254,348(1971).
4. Bayer, E.; Müller, H.-P.: Tetrahedron Letters
6,533(1971).
5. Beyer, W.; Ott, R.D.: Mikrochim.Acta 1965,1130;
vgl.Z.Anal.Chem. 234,270(1968).
6. Blair, A.J.; Pantony, D.A.: Anal.Chim.Acta 16,121(1957)
vgl.Z.Anal.Chem. 158,55(1957).
7. Bradley, M.P.T.; Pantony, D.A.: Anal.Chim.Acta
38,113(1967).
8. Busev, A.I.; Charlamov, I.P.; Smirnova, O.W.: Anal.
Letters 3,177(1970).
9. -- Anal.Letters 3,191(1970).
10. Butts, W.C.; Rainey, W.T.: Anal.Chem. 43,538(1971).
11. Ecker, E.: Chemiker-Ztg. 11,511(1971).
12. Frei, R.W.; Ryan, D.E.; Stockton, C.A.: Anal.Chim.Acta
42,59(1968); vgl.Z.Anal.Chem.
248,52(1969).
13. Fujinaga, T.; Kuwamoto, T.; Murai, S.: Talanta 18,429
(1971).
14. Galik, A.; Vincourova, A.: Anal.Chim.Acta 46,113(1969)
15. Gleu, K.; Schwab, R.: Angew.Chem. 62,320(1950);
vgl.Z.Anal.Chem. 134,37(1951/52).
16. Heizmann, P.: Diplomarbeit, Mainz 1971.
17. Hranisavljević-Jakovljević, M.: Mikrochim.Acta
1965,141.
18. Huf, H.J.: Diplomarbeit, Mainz 1970.
19. Karasek, F.W.: Research/Develop. 22,34(1971).
20. Kirkland, J.J.: J.Chromatog.Sci. 9,206(1971).

21. König, K.: Staatsexamensarbeit, Mainz 1969.
22. Masoomi, Z.; Haworth, D.T.: J.Chromatog. 48, 581 (1970).
23. Moshier, R.W.; Sievers, R.E.: Gas Chromatography of Metal Chelates. Oxford: Pergamon 1965.
24. Niederschulte, U.: Diplomarbeit, Mainz 1971.
25. Schuphan, I.: Dissertation, Mainz 1970.
26. -- Ballschmiter, K.; Tölg, G.: Z.Anal.Chem. 255, 116 (1971).
27. Senf, H.J.: J.Chromatog. 27, 331 (1967); vgl. Z.Anal. Chem. 246, 267 (1969).
28. -- Mikrochim.Acta 1969, 522.
29. Tahitani, S.; Hata, Y.; Sazuki, M.: Japan Analyst 18, 626 (1969).
30. Tanikawa, K.; Arakawa, K.: Japan Analyst 20, 274 (1971).
31. Thorn, G.D.; Ludwig, R.A.: The Dithiocarbamates and related compounds. Amsterdam: Elsevier 1962.
32. Vanderdeelen, J.: J.Chromatog. 39, 521 (1969); vgl. Z.Anal.Chem. 250, 213 (1970).

Seit Anbeginn der Verwendung von Komplexbildnern zum Nachweis und zur Trennung von Metallen in der DC leidet die Methode an ihrer Unspezifität. Diesen Mangel zu beseitigen, sind viele Versuche unternommen worden (3). Durch Variation der verschiedenen Parameter wurde die Methode verfeinert (59).

BALLSCHMITER et al. (4,35) befaßt sich mit der dünn-schichtchromatographischen Trennung der Chelate des Diäthyl-Dithiocarbamidats (DEDTC) und von Dithiocarbamidaten, die auf andere Weise substituiert sind. Das Ergebnis der Arbeit zeigt, daß DEDTC-Chelate unter den Dialkyldithiocarbamidaten ein weitgehendes Optimum darstellen, was die Extrahierbarkeit und die dünn-schichtchromatographische Trennung anbelangt. Wesentlichen Einfluß auf den Unterschied der Chelat-Lösungsmittel- und Chelat-Dünn-schicht-Wechselwirkung nimmt das Zentralatom des Chelats (5). Dieser Einfluß kann jedoch durch die Ligandengröße oder durch die Trennung verschiedener Metall-Dithiocarbamidate verhindert werden (35).

Die Dithiocarbamidatgruppe als einwertiger aber zweizähliger Ligand sei bestrebt, einen planaren 4-Ring mit dem Kation zu bilden. Neben der Auftrennung der Gruppen Me(I)DTC , Me(II)(DTC)_2 und Me(III)(DTC)_3 , die sich bereits aus der Molekülgröße ergibt, sollte eine Auftrennung der Gruppe Me(II)(DTC)_2 nach der unterschiedlichen Anordnung der Liganden - z.B. planar oder tetraedrisch - zu erwarten sein (4).

2.1.2. Flüssigkeitschromatographie und Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie

In neuerer Zeit wird die Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC), die bisher hauptsächlich zur Trennung organischer Stoffgemische Anwendung fand, auch in der anorganischen Chemie eingesetzt. Anwendungsmöglichkeiten der HPLC in der anorganischen Spurenanalyse im Nano- und Picogrammbereich untersuchte SCHWEDT (61). Er stellt in seiner Arbeit den in der Spurenanalyse wichtigen Vorteil dar, daß gegenüber der Gaschromatographie (GC) verhältnismäßig große Volumina auf die Säule gegeben werden können. (HPLC:GC = 50:1).

Auf einen weiteren großen Vorteil der HPLC sei verwiesen: der üblicherweise in der HPLC verwendete Detektor ist das Photometer. Deshalb können viele mit dem Photometer erarbeiteten Erfahrungen, zum quantitativen Nachweis von Schwermetallchelaten, auf diese Nachweismethode übertragen werden (15).

SCHWEDT (61) berichtet unter anderem über die Verwendung von Natrium- und Diäthylammonium-diäthyl-dithiocarbamidaten. Es wird von Schwierigkeiten berichtet, die sich bei der klassischen, direkten photometrischen Analyse des Selen-Carbamidats ergeben. Ursache ist die störende Absorption des eingesetzten Reagenzes und der Begleitelemente. Die HPLC erlaubt die Abtrennung der störenden Begleitelemente und die erwünschte Bestimmung. Spektren

von Se-, Ni-, Cu- und Pb-Carbamidaten werden gezeigt.

Die geringe Flüchtigkeit und die niedrige thermische Stabilität der meisten Metallchelate begrenzt die Anwendungsmöglichkeit vieler Metallchelate in der GC. Nicht so in der HPLC (28). Das Feld der Anwendungsmöglichkeiten von Chelatbildnern aus der anorganischen Spurenanalyse ist bedeutend breiter (27). Die Trennung von Cu, Hg, Ni und Co-diäthylthiocarbamidaten wird berichtet.

Der selbe Autor berichtet an anderer Stelle(35) davon, daß Dicyclohexyl- und Dibenzyl-Dithiocarbamidaten im Anwendungsbereich der HPLC überlegen sind. Allgemein ist die Trennleistung bei der HPLC nicht ganz so hoch wie bei der GC. Ebenso weist die GC eine größere Empfindlichkeit auf, besonders bei Verwendung hochempfindlicher Detektoren.

2.1.3. Gaschromatographie

Voraussetzung für die Gaschromatographie (GC) ist eine ausreichende Flüchtigkeit, thermische Stabilität und chemische Beständigkeit der zu trennenden Substanzen. Diese zur GC notwendigen Parameter können die Bestandteile der Probe unmittelbar besitzen oder die Komponenten können durch geeignete Derivatisierungsverfahren in entsprechend geeignete Verbindungen übergeführt werden.

Derivatisierungsmethoden erweitern den Kreis der mit der GC bestimmbaren anorganischen Kationen und Anionen erheblich. Die wichtigsten Derivatisierungsverfahren sind die Bildung flüchtiger Halogenide, flüchtiger Ester, flüchtiger metallorganischer Verbindungen und flüchtiger Chelate (49).

2.1.3.1. Gaschromatographie von Metallchelaten

Zur gaschromatographischen Analyse von Metallen über ihre Chelate sind nach NEEB (49) folgende Eigenschaften erforderlich:

1. Bildung thermisch stabiler Chelate
2. Ausreichende Flüchtigkeit der Metall-Chelate
3. Quantitative und schnelle Bildung des Metall-Chelats
4. Optimaler Transfer des Metall-Chelats zur gaschromatographischen Bestimmung
5. Optimale Eluierbarkeit des Metall-Chelats

Als Chelatbildner kommen zum Beispiel in Frage: β -Diketone, β -Thioketone, β -Ketoamine, Salicylaldimine, Dialkyldithiophosphate, Dialkyldithiophosphinate, Dialkyldithiocarbamate und andere mehr (49).

Abb. 2: Überblick über die Gaschromatographie von
Metallchelaten. Nach NEEB (49).

Metall	Ligand
Alkalimetalle	I ⁺ , VI ⁺
Aluminium	I, VI
Antimon	V
Barium	I
Beryllium	I
Blei	I, II, IV, V
Cadmium	I, II, IV, V
Chrom	I, IV, V
Erdalkalimetalle	I
Eisen	I, V
Gallium	I, V
Gold	IV
Hafnium	I, VI
Indium	I, V
Kobalt	I, II, IV, V
Kupfer	I, II, III, IV, V
Mangan	I
Molybdän	I
Nickel	I, II, III, IV, V
Palladium	I, II, III, IV, V
Platin	II, III, IV, V
Quecksilber	V
Rhodium	I, IV
Ruthenium	I, IV
Scandium	I
Selt. Erden	I
Thallium	I, V
Thorium	I
Titan	I, VI
Uran	I
Vanadin	I
Wismut	V
Zink	I, II, III, IV, V

+ als MeCo (HFA)₃, Me = K, Rb, Cs

Legende zur Abb. 2:

Liganden:

- I β -Diketone
- II β -Thioketone
- III β -Ketoamine, Salicylaldimine
- IV Dialkyldithiophosphate und
-phosphinate
- V Dialkyldithiocarbamate
- VI andere Liganden

Die Kombinationsmöglichkeit der GC mit anderen Techniken macht ihre Anwendung besonders interessant; so die Verwendung der Lösungsmittelextraktion oder der Massenspektrophotometrie.

Ganz allgemein besitzt die GC im Vergleich mit anderen Trenn- und Nachweismethoden manche Vorteile: RODRIQUEZ-VAZQUEZ (51) nennt Einfachheit, Wiederholbarkeit, hohe Empfindlichkeit, hohe Trennfähigkeit und ein sehr großes Anwendungsgebiet bezüglich der nachweisbaren Stoffe, wie auch der nachweisbaren Stoffmenge. Schließlich eine sehr geringe Stoffmenge, die zur Untersuchung notwendig ist. Die Möglichkeit mehrere Substanzen gleichzeitig zu erfassen kommt noch hinzu. Durch die Anwendung unterschiedlicher Detektionssysteme kann die GC

auch über sehr große Konzentrationsbereiche hinweg angewandt werden.

Beim Arbeiten in extrem niedrigen Konzentrationsbereichen kann man Störungen durch die Verwendung eines internen Standards begegnen, zum Beispiel bei Substanzverlusten durch Absorption auf der Säule.

2.1.3.2. Die Gaschromatographie von Hydriden

Eine weitere Möglichkeit, anorganische Stoffe mit der zur GC notwendigen Flüchtigkeit zu versehen, ist für manche Elemente die Überführung in ihre Hydride. Die Umsetzung zum Hydrid ist als sehr einfach beschrieben, auch wenn es sich um organische Proben handelt.

VYCUDILIK (68) beschreibt zum Beispiel die gaschromatographische Bestimmung von Arsenwasserstoff in biologischem Material direkt mittels Leitfähigkeits- und Flammenionisationsdetektor nach einer Methode von IGUCHI (30).

LÜSSI-SCHLATTER und BRANDENBERGER (41;42) stellen eine Weiterentwicklung dieser Methode zum Nachweis von Arsen und Zinn vor. Dabei wird an einen gaschromatographischen Trennungsvorgang der Hydride die massenspezifische Detektion angeschlossen. Zur quantitativen Auswertung wird die Anwendung eines inneren Standards empfohlen.

2.1.3.3. Gaschromatographie von Elementen

Auch eine Trennung rein anorganischer Stoffe ist möglich. Voraussetzung dafür sind so hohe Temperaturen, daß die Verflüchtigung metallischer oder auch nicht metallischer Stoffe erreicht wird. Dieses Verfahren der Hochtemperatur-Gaschromatographie wird von BÄCHMANN (2) beschrieben.

Es werden Temperaturen bis zu 1000°C benötigt. Besondere Gaschromatographen sind dazu notwendig. Die außerhalb der Säule angebrachten Detektoren arbeiten nach dem Prinzip der Atomabsorptionsspektroskopie, Atomemissionsspektroskopie oder Massenspektroskopie, Röntgenfluoreszenzanalyse, γ -Spektroskopie oder Massenspektroskopie. Sie sind so spezifisch, daß nur in sehr seltenen Fällen eine Überlappung der zu trennenden Stoffe stört.

Die Flüchtigkeit vieler metall-organischer Verbindungen, wie Phenylarsin und Methylquecksilber, ist so hoch, daß sie gaschromatographisch nachweisbar sind.

DAUGHTREY, FITCHETT und MUSHAK (11) messen anorganisches Arsen und Arsen, das mit einem oder mit zwei Methyl-Resten versehen ist.

SCHWEDT (60) beschreibt die Derivatisierung um die Flüchtigkeit zu erreichen. Er empfiehlt zur Verbesserung der Empfindlichkeit und des gaschromatographischen Verhaltens die Bestimmung von Arsen

aus biologischem Material über Triphenylarsin .
Ferner wird auch die Trennung von Chloriden,
Fluoriden, Oxiden und AlCl_3 -Komplexen einer Viel-
zahl von Elementen beschrieben.

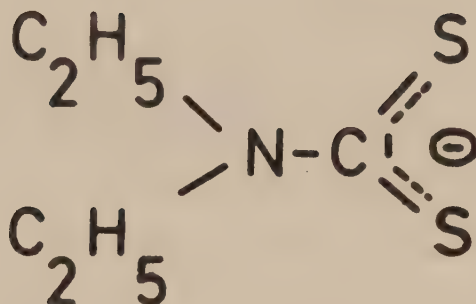
2.2. Natriumdiäthylthiocarbamidat

2.2.1. Herstellung

Natriumdiäthylthiocarbamidat (NaEDTC), das Natriumsalz der Diäthylthiocarbamidsäure (Dithiokohlensäure-diäthylamid) ist in der analytischen Chemie schon lange als Chelatbildner bekannt. Eine zusammenfassende Übersicht über Anwendbarkeit und Eigenschaften des NaEDTC gibt zum Beispiel KOCH, KOCH-DEDIC (33).

Grundkörper dieser Substanzklasse ist die im freien Zustand relativ unbeständige Dithiocarbamidsäure.

Abb.3: D E D T C



N,N-DIETHYL-DITHIO-CARBAMATE

Die wesentlich beständigeren Salze der Dithiocarbamidsäure lassen sich nach folgenden allgemeinen Methoden darstellen:

1. Durch Umsetzung von einem Mol Schwefelkohlenstoff mit zwei Mol primärem oder sekundärem Amin erhält man das dithiocarbamidsaure Salz des eingesetztenamins. Voraussetzung ist ein aliphatisches, d.h. reaktiv stark basisches Amin (67).

2. Durch Einwirkung von äquimolaren Mengen Schwefelkohlenstoff, Amin und Alkalimetallhydroxid entstehen die entsprechenden Alkalisalze der Dithiocarbamidsäure (66).
3. Bei Aminen mit sehr geringer Basizität werden vorher die Natriumverbindungen hergestellt, die dann mit Schwefelkohlenstoff die dithiocabamidsauren Natriumsalze bilden (67).

Wenn Carbamate gemeint sind, wird oft von Carbamaten gesprochen. Dieser Ausdruck ist weitgehend verbreitet, aber nicht korrekt. Handelt es sich doch bei den Carbamiden um Salze der Carbamidsäure.

2.2.2. Anwendung

Mit vielen Metallen bildet NaDEDTC Chelatkomplexe, die in organische Lösungsmittel extrahierbar sind. Gut löslich sind die Chelatkomplexe in organischen Lösungsmitteln mit endlichem Dipolmoment. Insbesondere in Chloroform, das ein Dipolmoment von 0,97 besitzt. Mit welchen Metallen NaDEDTC einen in organische Lösungsmittel extrahierbaren Komplex bildet, zeigt die folgende Abbildung nach KOCH, KOCH-DEDIC (33).

Für die Chelatbildung, wie auch für die Extrahierbarkeit der Metallchelate, spielt der pH-Bereich eine große Rolle (7; 33).

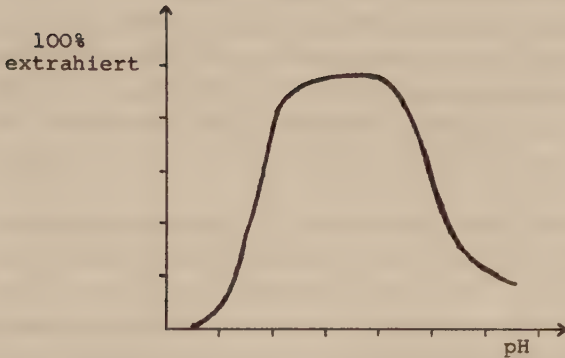
a) saurer Bereich

Im sauren Bereich nimmt die Extrahierbarkeit der gebildeten Chelate mit steigender Wasserstoffkonzentration ab und die Zersetzungsgeschwindigkeit, der bei diesem pH weitgehend frei vorliegenden Diäthylthiocarbaminsäure, zu. Die Zersetzungsgeschwindigkeit nimmt von einer pH-Stufe zur nächsten um eine Zehnerpotenz zu.

b) basischer Bereich

Die freie Diäthylthiocarbaminsäure wird unterhalb von pH 8 mit zunehmendem Ausmaß mitextrahiert. Dies ist insbesondere störend, wenn direkt mit dem Spektralphotometer gearbeitet wird, da die freie Diäthylthiocarbaminsäure mit ihrer Eigenextinktion unterhalb von 390 nm dann oft erheblich stört. In der Praxis sind überdies oft auch Metallhydroxid-Fällungen oder Hydroxokomplexe in diesem pH-Bereich störend. Den Verlauf einer typischen Extraktionskurve für ein Element zeigt folgende Abbildung.

Abb. 5: Extraktionskurve für ein Element.
Nach NEEB (49).



Es ist deswegen notwendig, für jedes Metall den optimalen pH-Bereich für eine Chelatextraktion unter Einsatz von Pufferlösungen, experimentell zu ermitteln.

Bei deren Wahl muß jedoch berücksichtigt werden, daß sie zum Teil selbst Komplexbildner enthalten, die das Ausschütteln der Metalle stören können (20).

Bei einem großen Volumen der wäßrigen Phase muß auch an den Dissoziationsgrad des Metallchelats gedacht werden (49).

NaEDTC bildet mit vielen Metallen Chelate. Da jedoch die Affinität verschiedener Metalle zu Komplexbildnern unterschiedlich ist, wurde versucht, eine selektive Extraktion zu erreichen. Unter Ausnützung von Eigenschaften wie der erwähnten divergenten Affinität und dem Verhalten bei unterschiedlichen pH-Bereichen und unter Zusatz bestimmter Maskierungsmittel soll eine Selektivität der Extraktion möglich sein (33). Aus diesem Grunde können, wie bei KOCH, KOCH-DEDIC (33) angegeben, Verdrängungsreihen gebildet werden.

Die Anwendbarkeit der NaEDTC in der Analyse wurde von BODE (77) systematisch untersucht.

Zur quantitativen spektralphotometrischen Bestimmung sind NaEDTC-Komplexe nur geeignet, wenn das zu bestimmende Metall in nicht zu kleinen Mengen vorliegt. Ferner dürfen Absorptionsmaxima des Metallchelats und der freien Säure einander nicht stören (33).

Von GELDMACHER-v.MALLINCKRODT und POOTH (20) wurde 1968 ein Verfahren vorgestellt, das eine spektrophotographische Bestimmung von 25 Metallen und Metalloiden als DEDTC-Komplex ermöglicht.

SCHUPHAN und BALLSCHMITER (58) stellen fest, daß die Chelatbildung der Dithiocarbaminsäure mit Schwermetallionen in der Analytik häufig zur colorimetrischen, gravimetrischen und seltener zur titrimetrischen Bestimmung von Schwermetallionen genutzt werde. Auch für die Atom-Absorptions-

Analyse wird NaDEDTC eingesetzt.

Wer als erster die Möglichkeit erkannt hat, NaDEDTC in der GC einzusetzen, ist aus der Literatur nicht klar zu entnehmen. Bis 1973 wußte man nur von einigen β -Diketonen, daß sie flüchtig und stabil genug waren, um in der GC Anwendung zu finden (15). Nachteil der β -Diketone aber ist, daß sie mit einigen toxikologisch interessanten Metallen, wie etwa dem Arsen oder dem Cadmium keine stabilen Chelate bilden.

Bereits 1970 stellten D'ASCENZO und WENDLANDT - nach CARDWELL und DESARRO (10) - die Flüchtigkeit einiger Metaldithiocarbamidate fest. 1972 verwandten SCHWEDT und RÜSSEL (60) DEDTC zum Arsen-nachweis auf gaschromatographischem Wege. Dabei wurde allerdings noch nicht der Chelatkomplex chromatographiert, sondern das Triphenylarsin. Dieses wurde gewonnen nach Umsetzung des Komplexes mit Magnesiumdiphenyl. 1975 berichtete DAUGHTREY et al. (11) von quantitativen Bestimmungen des anorganischen und methylierten Arsen als Diäthyl-dithiocarbamidatkomplex. NEEB und Mitarbeiter (62), sowie CARDWELL, DESARRO und UDEN (10) berichten z.B. 1976 von der Flüchtigkeit des DEDTC-Komplexes.

2.2.3. Thermographimetrische Untersuchungen

Um die Anwendbarkeit von Komplexbildnern in der GC beurteilen zu können, werden von einigen Autoren thermographimetrische Untersuchungen durchgeführt. So zeigen z.B. CARDWELL, DESARRO, UDEN (10) Thermogramme von einigen Metall-Diäthylthiocarbamidaten.

In einer großangelegten Untersuchung beschäftigt sich NEEB et al. (63;64) mit dem thermographischen Verhalten verschiedener Carbamidate. Ausführlich werden dabei insbesondere die Vorteile von Di(trifluoräthyl)-dithiocarbamidatchelaten hervorgehoben. Die Darstellung der fluorierten Chelatbildnern wird beschrieben. Die dazu notwendigen Reagentien sind im Handel erhältlich, jedoch extrem teuer. Dies macht ihre Anwendung im analytischen Bereich z.Z. weitgehend uninteressant. Dennoch sind die Vorteile zu erwähnen: Höhere Flüchtigkeit, größere Stabilität in sauren Lösungen und günstigeres Verteilungsverhalten als unsubstituiertes DEDTC.

Der Einfluß der Trifluoräthyl-Gruppe auf die Flüchtigkeit der Metall-Chelate wird in den Abbildungen 6 und 7 gezeigt. Thermographimetrische Kurven von Ni-Chelaten des Diäthyl- und des Di(trifluoräthyl)dithiocarbamidat sind abgebildet.

Diese Untersuchungen zeigen auch, daß bei Chelaten mit Di-n-alkylgruppen das Maximum der Flüchtigkeit bei den Diäthylgruppen erreicht wird; ferner, daß sowohl das Zentralatom als auch Art und Länge der Liganden die Flüchtigkeit des jeweiligen Chelats beeinflussen, wobei dem Einfluß des Liganden erheblich größere Bedeutung zukommt, als dem des Zentralatoms (63).

Das von BALLSCHMITER (4) für die DC beschriebene Laufverhalten verschiedener MeDEDTC-Komplexe sollte auch in der GC zu unterschiedlicher Verweildauer auf der Säule führen.

Abb. 6: Thermogravimetrische Kurven von Bis-(di(tri-fluoräthyl)-dithiocarbamato)-Ni (1) und Bis-(di(äthyl)-dithiocarbamato)-Ni (2).
Nach TAVLARIDIS und NEEB (65).

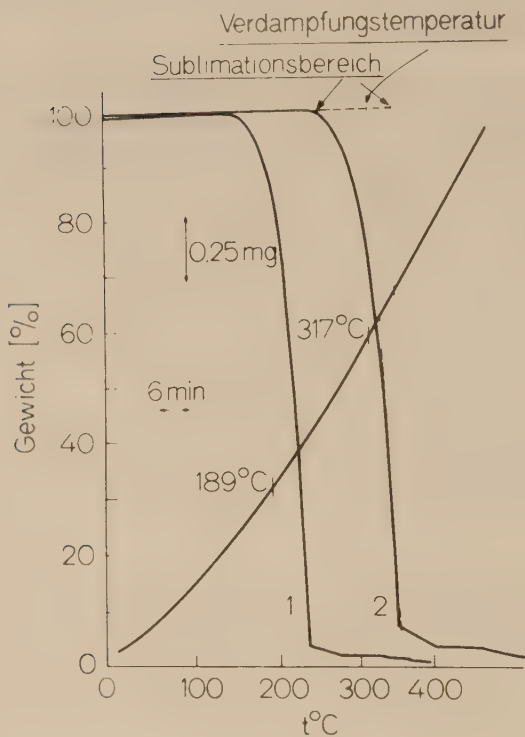
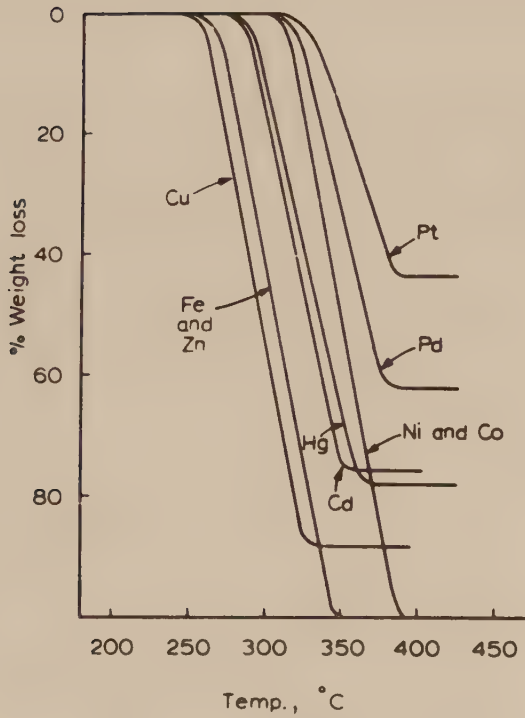


Abb. 7: Thermogramme der Diäthylthiocarbamate
 von Cu II, Fe III, Zn II, Hg II, Cd II,
 Ni II, Co III, Pd II und Pt II.
 Nach CARDWELL und DESARRO (10).



3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Vorbereitungen

3.1.1. Herstellen der Reagentien

Metallproben:

Von verschiedenen Metallen wurde eine wäßrige Lösung des jeweiligen Salzes hergestellt. Die Konzentration der Stammlösung betrug 1g/l. Die Lösungen wurden nach dem Gewicht des Metallanteils eingewogen. Die Auswahl des Salzes des jeweiligen Metalles erfolgte nach Löslichkeit und Stabilität. Folgende Metalle wurden nach toxikologischem Interesse ausgewählt: Ag; As III; Ba; Cd; Co II; Co III; Cu II; Fe III; Hg II; In; Mn II; Mn III; Ni; Pb; Tl I; Tl III; Zn.

Chelatbildner:

Um den Chelatbildner in definierter Menge einsetzen zu können, wurde eine wäßrige Lösung des in kristalliner Form vorliegenden NaEDTC hergestellt. Da sich das gelöste NaEDTC zersetzt, muß stets eine frische Lösung zubereitet werden. Der Chelatbildner wurde im Überschuß zur Probe gegeben. Das NaEDTC wurde in solcher Menge eingesetzt, daß es in ca. zehnfachem Überschuß zum Metall vorhanden war.

3.1.2. Wahl des Lösungsmittels

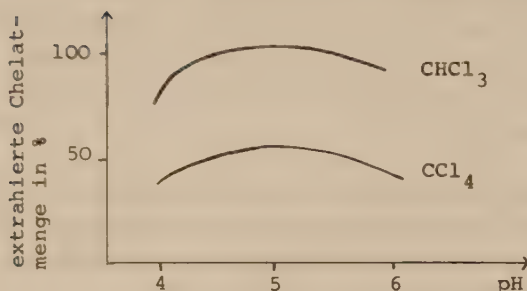
Durch die Chelatisierung wird das Metallion in eine ungeladene Form überführt und ist dann in organischen Lösungsmitteln wesentlich besser löslich als in wässrigen. Um das Prinzip der Lösungsmittlextraktion anwenden zu können, wurde ein organisches Lösungsmittel gesucht, in dem sich der gebildete Komplex möglichst gut löst.

Besonders bei der Extraktion aus organischen Proben ist es von Vorteil, wenn sich die beiden Flüssigkeiten gut voneinander trennen lassen und möglichst schlecht miteinander mischbar sind.

In Äthanol lösen sich die Komplexe schlecht. Benzol, Toluol und Xylol entwickeln im Detektor starken Ruß, der sich auf diesem niederschlägt. Ebenso wurden mit Ketonen wegen starker Rußentwicklung schlechte Erfahrungen gesammelt. So z.B. mit Diisopropylketon und Methylisopropylketon, wie sie zur Extraktion von Hexamethylammonium-hexamethyldithiocarbamidat Verwendung finden (5;10).

Das Ergebnis eines Extraktionsversuches mit Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff zeigt die Abbildung 8. Der Versuch wurde mit dem Atomabsorptionsspektrophotometer durchgeführt.

Abb. 8: Atomabsorptionsspektrophotometrische Messung eines Metall-Chelates mit Chloroform und mit Tetrachlorkohlenstoff als Extraktionsmittel (jeweils gleiche Metall- und Chelatbildnermenge).



In der Literatur wird als bestes Lösungsmittel für Metallchelate des DEDTC das Chloroform angegeben (33). Da Chloroform für den Gaschromatographen, und zwar für den Detektor ebenso wie für das Säurematerial, wenig geeignet ist, wurde nach einem anderen Lösungsmittel gesucht.

Nachdem sich eine Reihe reiner Lösungsmittel als nicht geeignet erwiesen, gelang die Lösung in einem Gemisch aus 70% Äthylacetat und 30% Diäthyläther gut. Für Säule und Detektor ist dieses Diäthyläther-Äthylacetat-Gemisch besser als Chloroform geeignet. Beim Einspritzen der Proben ergaben sich trotz der sehr niedrigen Verdampfungstemperaturen des Äthers keine Probleme.

Zur Extraktion eignet sich jedoch Chloroform besser als das Diäthyläther-Äthylacetat-Gemisch. Es wird

vollständiger extrahiert und auch die Phasentrennung ist leichter.

Alle weiteren Proben wurden deshalb mit Chloroform extrahiert, im Spitzgläschen unter dem Vakuum einer Wasserstrahlpumpe bei 50°C eingedampft und erst kurz vor dem gaschromatographischen Nachweis in dem Diäthyläther-Äthylacetat-Gemisch gelöst.

Im Spitzgläschen liegen die Chelate als gefärbte Kristalle vor; charakteristisch gefärbt je nach dem jeweiligen Metallion.

Das Chelat darf erst ganz kurz vor dem chromatographischen Nachweis im Diäthyläther-Äthylacetat-Gemisch gelöst werden. Dies muß aus zwei Gründen so sein. Zum einen verändert sich durch das schnelle Verdampfen des Diäthyläthers die Konzentration. Zum anderen zersetzen sich die Proben. Der Komplex zerfällt. Unsere Versuche, den Zerfall in einer Zeit-Abhängigkeit darzustellen, waren nicht erfolgreich.

3.1.3. Wasserstoffionenkonzentration

Wie bereits dargelegt, spielt die Wahl des pH-Bereichs bei der Verwendung von Na-DEDTC eine wichtige Rolle. Der Arbeitsbereich wird eingeschränkt durch die Zersetzung des Carbamidates, des Chelatkomplexes und durch die Veränderung des Metalles in Form von Metallhydroxid-Fällungen oder von Hydroxokomplexen. Bei der gaschromatographischen Messung

stören auch Zersetzungsprodukte der freien Säure. Zu bedenken ist auch, daß andere vorhandene Metalle das zu Untersuchende aus der Chelatbindung verdrängen können.

Für die einzelnen Metalle werden von KOCH, KOCH-DEDIC (33) und BODE (7) pH-Bereiche angegeben, in denen die Extraktion möglich ist. Diese pH-Bereiche sind sehr weit angegeben. Die Autoren nahmen dabei keine Rücksicht auf die Vollständigkeit der Extraktion. Diese ist jedoch in der quantitativen Spurenelementanalyse unbedingt notwendig. Wie stark der gewählte pH-Bereich sich auswirken kann, zeigen die Abbildungen 9 und 10.

Abb. 9: Die Extrahierbarkeit des Cu mit NaDEDTC in Abhängigkeit vom pH-Wert. Nach KOCH, KOCH-DEDIC (33).

pH	% extrahiert
1,05	30
2,00	55
3,04	57
4,05	82
5,00	98
6,02	101

Abb. 10 : Der Einfluß der Zeit auf die
Stabilität des NaDEDTC.
Nach KOCH, KOCH-DEDIC (33).

pH	Reaktionszeit min	Cu, gefunden %
1,05	0	61,6
	30	0
	60	0
6,02	0	98,0
	30	96,4
	60	64,0

Für den beschriebenen Versuch wurde ein pH-Bereich von 4,5 gewählt. Damit sind bei den verschiedenen Metallen die besten Ergebnisse zu erzielen. Die Proben wurden mit einem Puffergemisch in die gewünschte Konzentration gebracht. Es wurde ein 0,2n Essigsäure-Acetatpuffer gewählt. Der Puffer muß rein sein. Insbesondere dürfen keine anderen Chelatbildner oder störende Metallspuren enthalten sein. Korrektur mit NaOH und Essigsäure auf pH 4,5.

Der Versuch, die Zersetzung des Komplexes in eine Zeitabhängigkeit zu bringen, glückte nicht.

3.1.4. Extraktionsvorschrift

Auf Grund vorstehender Voruntersuchungen wurde zur weiteren gaschromatographischen Analyse die Aufarbeitung der wäßrigen Lösungen der Metallionen in folgender Weise vorgenommen:

1. Die Konzentration der Metallionen betrug 1g/l bis 10mg/l.
2. Mit 0,2n Essigsäure-Acetatpuffer auf 5ml auffüllen. Kurz mischen. pH Kontrolle. pH Korrektur mit NaOH und Essigsäure. Einstellen auf pH 4,5.
3. Herstellen der NaDEDTC-Lösung an jedem Arbeitstag frisch. 0,5g NaDEDTC mit Aqua dest. auf 50ml auffüllen. Ergibt eine Lösung von 10g/l.
4. 1ml der NaDEDTC-Lösung zur Metalllösung. Bei stärkeren Konzentrationen ist am Farbumschlag sofort die Chelatbildung zu erkennen. Kurz mischen.
5. Extraktion: 5ml Chloroform zugeben. Gründlich ca. 1min lang schütteln. Ruhenlassen bis zur vollständigen Phasentrennung. Die organische Phase wird dann mit einer Pasteurpipette aufgenommen und in ein Abdampfgefäß gebracht.
6. Eindampfen: Der Chloroformextrakt wird schonend bei 50°C am Rotavapor zur Trockne eingedampft.
7. Unmittelbar vor der Injektion in den Gaschromatographen in 5ml Diäthyläther- Äthylacetat (70% zu 30%) aufnehmen. Mischen. Bei geringen Konzentrationen kann durch eine Verminderung der Diäthyläther-Äthylacetat Menge eine Konzentrierung vorgenommen werden.

3.2. Gaschromatographie

3.2.1. Arbeitsbedingungen

Geräte:

Zu den gaschromatographischen Untersuchungen wurde zunächst ein Gerät Pye 104 der Firma Philips benutzt. Anfangs wurden Versuche mit dem Flammenionisationsdetektor (FID) gemacht. Später wurde ein stickstoffempfindlicher Detektor (NFID) benutzt. Die Temperaturen von Einspritzblock, Säule und Detektor sind getrennt regelbar. So können die optimalen Bedingungen ermittelt werden. Bei diesem Gerät wurden ausschließlich Säulen benutzt, deren Detektorende ein in das Säulenglas eingeschmolzenes Metallstück ist.

Spätere Versuche wurden an einem Gaschromatographen Hewlett-Packard 5830A durchgeführt. Die Glassäulen wurden ausschließlich mit temperaturbeständigen Teflondichtungen eingebracht. Dies war notwendig, da sich herausstellte, daß die besten Ergebnisse bei verhältnismäßig hohen Temperaturen zu erzielen sind.

Stets wurde direkt auf die Säule eingespritzt. Es ist von Vorteil, wenn die Nadel beim Einspritzen direkt über dem Säulenfüllmaterial endet.

Als Trägergas diente Helium. Mit der Verwendung von Stickstoff ergaben sich Probleme. Vermutlich stört der nicht vollständig gereinigte Stickstoff die einwandfreie Funktion des Säulenmaterials.

Säule:

Um eine saubere Auftrennung der nachzuweisenden Stoffe zu erhalten wurden verschiedene Säulenfüllungen erprobt.

stationäre Phase		Trägermaterial		
3% OV	1	Chromosorb	W HP	80/100 mesh
4% OV	1	Chromosorb	W HP	80/100 mesh
3% OV	17	Chromosorb	W HP	80/100 mesh
3% OV	101	Chromosorb	W HP	80/100 mesh
5% OV	101	Chromosorb	W HP	80/100 mesh
--	Ultrabond ^R	----		
3% SE	30	Chromosorb	AW-DMCS	80/100 mesh
3% SP1000		Supelcoport		100/120 mesh
3% Dexil	400	Supelcoport		100/120 mesh
3% OV	1 BPC			

Die besten Ergebnisse hinsichtlich Peakform und Trennleistung wurden mit 5% OV 101 als stationäre Phase und Chromosorb W HP mit einer Korngröße von 80/100 mesh als Trägermaterial erzielt.

Bei einer Belegung von 5% sind die Auflösung und die Form der Peaks am besten. Jedoch sind auch mit 3%-iger Belegung gute Ergebnisse zu erhalten.

Brauchbar war auch BPC. Die anderen Materialien waren weniger geeignet.

Im weiteren wurde auch der Einfluß verschiedener Säulenlängen auf das Ergebnis der gaschromatographischen Trennung untersucht. Es wurden Säulenlängen von 50cm, 100cm und 200cm erprobt. Die extremen Maße führten nicht zu besseren Ergebnissen. Der Einfluß der Säulenlänge auf die Qualität des Ergebnisses scheint nicht von so wesentlicher Bedeutung zu sein, wie die Wahl der geeigneten stationären Phase.

Eine Erhöhung des Säulendurchmessers von 2mm auf 4mm brachte keine Verbesserung. Alle weiteren Versuche wurden daher mit Säulen von 2mm Innendurchmesser ausgeführt.

Die Verwendung einer Quarzglassäule brachte insbesondere bei geringen Probenmengen eine Verbesserung des Ergebnisses.

Die sorgfältige Vorbereitung einer Säule vor dem Analysengang erwies sich als sehr wichtig. Eine wirkliche Optimierung spielt eine wesentliche Rolle. Sie ist noch wichtiger als bei der GC im Regelfall.

Alle Säulen wurden deshalb vor der Füllung mit dem Trägermaterial in folgender Weise vorbehandelt: Die leere Säule wurde mehrmals mit Methanol und Aceton gewaschen und mit Toluol nachgespült. Anschließend wurde mit Dimethylchlorsilan behandelt.

Es wurde wieder mit Toluol nachgewaschen. Getrocknet wurde im Gaschromatographen ohne Detektoranschluß bei 50°C mit maximaler Trägergasdurchströmung.

Die Säule wurde dann mit dem Trägermaterial gefüllt. Sorgfältiges Konditionieren schloß sich an. 30 Minuten bei 25°C. Dann langsames Hochheizen von 25°C bis 300°C mit 1°C/min. Dabei ist die Höchsttemperatur nach der Herstellervorschrift für die einzelnen Säulenfüllungen zu beachten. Erreicht werden soll aber eine Höchsttemperatur, die 20°C über der späteren Arbeitstemperatur liegt.

Das Einspritzvolumen betrug bei unseren Versuchen stets 1 µl. Gute Ergebnisse sind bei geringsten Konzentrationen auch bei einem Volumen bis 2 µl zu erwarten.

Temperaturen:

Der Einfluß der gewählten Temperaturen ist auf das Ergebnis einer guten Analyse von entscheidender Bedeutung. Von den Chelaten des NaEDTC ist eine erhebliche Temperaturempfindlichkeit zu erwarten. Die Temperaturen von Detektor, Einspritzblock und auch die Ofentemperatur wurden optimiert.

Überraschenderweise erzielten wir die besten Ergebnisse mit relativ hohen Temperaturen.

Die Ofentemperatur ist je nach Metall zu variieren. Nur so sind symmetrischen Peaks mit wenig Tailing zu erhalten.

Hingegen kann die Temperatur des Detektors und auch des Einspritzblocks konstant bleiben. Die gewählten Standard-Temperaturen zeigt Abbildung 11.

Abb. 11 : Standard-Temperaturen für Ofen, Einspritzblock und Detektor bei der GC verschiedener Metalle.

	Ofen	Einspritzblock	Detektor
Tl I	230°C	260°C	300°C
Tl III	230°C	260°C	300°C
Zn	280°C	260°C	300°C
Cu II	280°C	260°C	300°C
Cd	280°C	260°C	300°C
Ni	280°C	260°C	300°C
Pb	280°C	260°C	300°C
Hg II	280°C	260°C	300°C
Co	280°C	260°C	300°C

An dieser Stelle muß noch auf einen Vergleich der Ofentemperaturen mit den angegebenen Dampfdrücken (10;55) hingewiesen werden. Die Dampfdrücke der meisten Metalle liegen über 300°C, so daß davon auszugehen ist, daß der Chelatkörper sich noch nicht in der Gasphase befindet.

3.2.2. Erzielte Nachweise

Die Chelate folgender Metalle können bei den oben erwähnten gaschromatographischen Arbeitsbedingungen nachgewiesen werden: As III, Cd, Co II, Cu II, Fe III, Hg II, Mn II, Ni, Pb, Tl I, Tl II, Zn.

Der Nachweis der zweiwertigen Metalle, wie z.B. Zink, Cadmium oder Kupfer ist am wenigsten problematisch. Es gelang jedoch auch Ergebnisse bei Metallen zu erhalten, die andere Wertigkeitsstufen besitzen.

Thallium wurde u.W. noch nicht gaschromatographisch nachgewiesen. Gerade hierbei gelang es, die verschiedenen Wertigkeitsstufen gaschromatographisch zu differenzieren.

Nach BODE (7) ist mit NaDEDTC Thallium in seinen Oxidationsstufen unterscheidbar. Auch KOCH, KOCH-DEDIC (33) nennt Metalle mit mehreren Oxidationsstufen : Fe, Cr, Tl. Nur für Thallium sind die Angaben für beide vorkommenden Formen ausgeführt.

Tl I und Tl III sind bei der Chelat-Extraktion bereits durch ihre Farbe unterscheidbar. Es sind jedoch Veränderungen zu beobachten, wenn die Proben der Chelate einige Zeit in Lösungen stehen. Die Farbe verändert sich und im Chromatogramm taucht die jeweils andere Oxidationsform ebenfalls mit auf. Darüberhinaus ist zeitweilig zwischen Tl I und Tl III ein dritter Peak zu beobachten. Die Ver-

mutung liegt nahe, daß es sich bei diesem um eine Chelatverbindung handelt, die mit zwei DEDTC-Resten gebildet worden ist.

3.2.3. Nachweis in biologischem Material

Die GC ist ein so empfindliches und so spezifisches Nachweisverfahren, daß hierfür im Gegensatz zu anderen Methoden meist eine relativ einfache Aufarbeitung der Probe genügt. Um festzustellen, ob ein organisches Medium bei dem Nachweis von DEDTC-Chelaten stört, wurden Vorversuche durchgeführt. Ein Metallsalz wurde in Urin gegeben, um die Extraktion mit NaDEDTC in Chloroform zu überprüfen. Anschließend wurde gaschromatographisch und atomabsorptions-spektrophotometrisch die Ausbeute bestimmt. Dieser Versuch wurde auch mit Urin gemacht, der mit den verschiedensten gebräuchlichen Arzneistoffen versetzt worden ist.

Es zeigt sich, daß die Verwendung von Chloroform zur Extraktion auch im Hinblick auf eine gute Phasentrennung sehr brauchbar ist.

Eine vorherige Leer-Extraktion des Urins mit dem Eluationsmittel (ehe der Chelatbildner zugegeben wird) ist in der Regel nicht notwendig. Ebenso ist es zur vollständigen Extraktion nicht notwendig, dieselbe Probe mehrfach zu extrahieren. Der Nachweis des frei im Urin vorliegenden Metallions ist ebenso möglich wie aus wäßriger Lösung.

3.3. Kováts-Indizes

Zur Charakterisierung einer Substanz dient in der GC die Retentionszeit. Um die Identifizierung einer Substanz zu erleichtern, wurde von E.sz. KOVÁTS (36) ein universell gültiges Maßsystem angegeben. Es ist begründet auf dem Zusammenhang zwischen Struktur und gaschromatischen Daten einer organischen Verbindung.

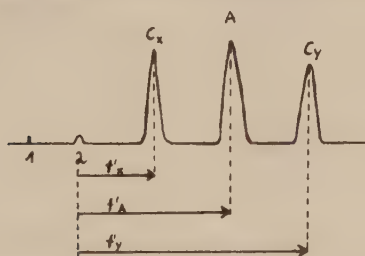
Nach MACHATA (43) gibt der Retentionsindex (RI) an, zwischen welchen n-Alkanen einer homologen Reihe eine bestimmte Substanz bezüglich ihrer Retentionszeit erscheint, wobei die RI der n-Alkane definitionsgemäß Zahlenwerte des 100-fachen ihrer entsprechenden Kohlenstoffzahl haben. Der erhaltene Wert ist nach den Angaben von SCHOMBURG (56) unabhängig von Arbeitsparametern wie z.B. der Säulenlänge, Trägergasgeschwindigkeit, Grad der Belegung und anderen mehr.

KOLB (34) hingegen fordert, daß bei der Angabe von Retentionsindizes, wie bei allen relativen Retentionsangaben, die Temperatur und die Art der stationären Phase mit angegeben werden muß. Keinesfalls dürfen zur Berechnung von Retentionsangaben Peaks mit Überlastung durch zuviel Stoffmenge oder mit Tailing verwendet werden (56).

Die Formel zur Berechnung des Retentionsindex lautet (43) :

$$RI = 100(y-x) \cdot \frac{1}{\log \frac{t'_y}{t'_x}} \cdot \log \frac{t'_A}{t'_x} + 100x$$

Abb. 12 : Erklärung der in der Formel zur Berechnung des Retentionsindex gebrauchten Symbole.



C_x	Kohlenwasserstoff mit x C-Atomen
C_y	Kohlenwasserstoff mit y C-Atomen
A	Substanz A
t'	Nettoretentionszeiten
1	Probenaufgabe
2	Luftpeak
1-2	Totzeit

Das Ergebnis unserer Versuche zeigt die Abbildung 13.

Abb. 13 : Kováts-Indizes von DEDTC-Komplexen.

Säule: 3% OV 101.

Metall	Temperatur	Kováts- Indizes
Tl I	230°C	2.000
Tl III	230°C	2.188
Zn	280°C	2.859
Cu II	280°C	2.984
Cd	280°C	3.043
Ni	280°C	3.068
Pb	280°C	3.155
Hg II	280°C	3.602
Co II	280°C	3.678

3.4. Massenspektrophotometrie

Um zu bestimmen in welcher Form die Chelate am Detektor ankommen und um ggf. Zerfallprodukte zu bestimmen, wurden Massenspektrogramme angefertigt.

Die Massenspektren wurden mit einem mit der Gas-Flüssigkeits-Chromatographie gekoppelten Massenspektrometer (GC-MS) erhalten. Gute Ergebnisse konnten bei der GC-MS mit einer offen gekoppelten Kapilarsäule erzielt werden. Benützt wurde eine Glaskapillare von 25cm Länge, Belegung: 3% OV 101.

Anfänglich wurde mit einer gepackten Säule und einem Massenspektrometer mit Spaltseparator gearbeitet. Die GC gelang. Doch die Massenspektrogramme verschiedener Metallchelate zeigen hierbei stets ein weitgehendes Massenspektrum, obwohl die Retentionszeiten differierten. Dasselbe Massenspektrogramm wurde auch von NaDEDTC alleine erzeugt. Dies hat wohl seinen Grund darin, daß sich die Chelate am Spaltseparator zersetzen.

Die Verbindung von GC und MS scheint besonders interessant für den Nachweis geringster Mengen von Metallspuren. Denn mit Hilfe der Isotopen-Verdünnung wird eine besonders präzise und elegante Messung möglich.

Abb. 14: Gaschromatogramm von Tl(I)-DEDTC.

Bedingungen:

5% OV 101 auf Chromosorb W HP 80/100 mesh

Gerät HP 5830 A

Säule: 1m

Einspritztemperatur 260°C

Ofentemperatur 230°C

Detektor: NFID

Detektortemp. 300°C

Eingesetzte Menge: 100mg/l Tl(I)

Eingespritzte Menge: 1µl

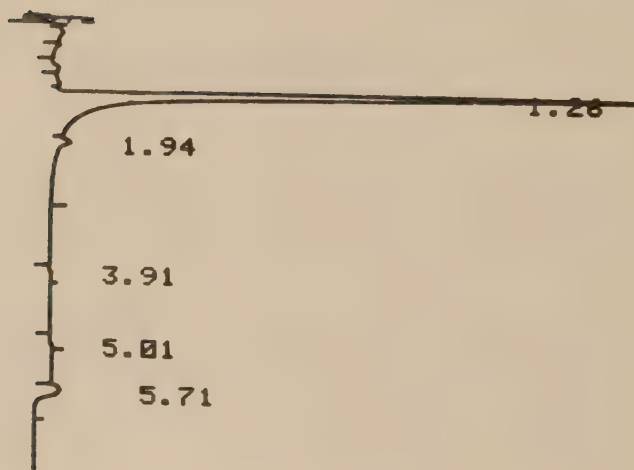


Abb. 15: Gaschromatogramm von Tl(III)-DEDTC.

Bedingungen:

Wie in Abb. 14 angegeben.

XF: 1.0000 E+ 0

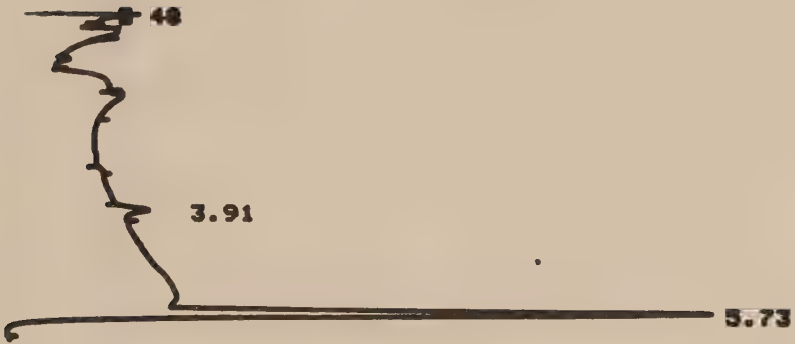


Abb. 16: EI-Spektrum von Tl(I)-DEDTC.

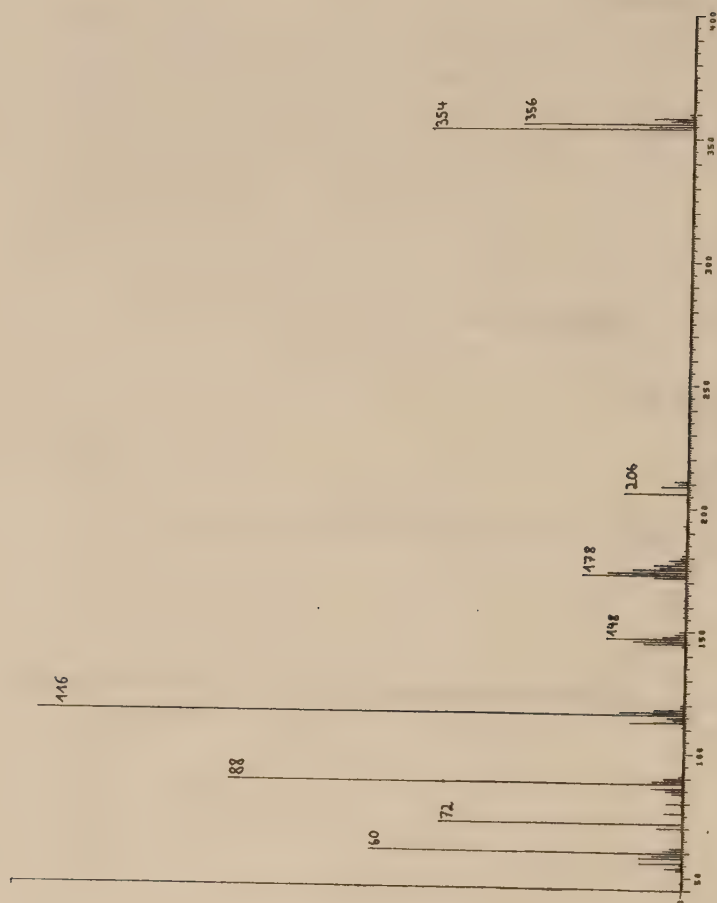


Abb. 17: Massenfragmente im EI-Spektrum des
Thallium-DEDTC.

Chelat - Rest	Massenzahl
Tl-DEDTC	356
	354
Tl	206
?	178
DEDTC	149
DEDTC	148
$(Et)_2-N=C=S$	116
$Et-N-C=S$ H	88
$(Et)_2N$	72
$H_2N=C=S$	60

Abb. 18: Gaschromatogramm von Cd-DEDTC.

Bedingungen:

5% OV 101 auf Chromosorb W HP 80/100 mesh

Gerät: Pye 104

Säule: 1m

Einspritztemperatur 280°C; Ofentemperatur 280°C

Detektor: FID

Detektortemp. 300°C

Eingesetzte Menge 200mg/l Cd

Eingespritzte Menge: 1µl

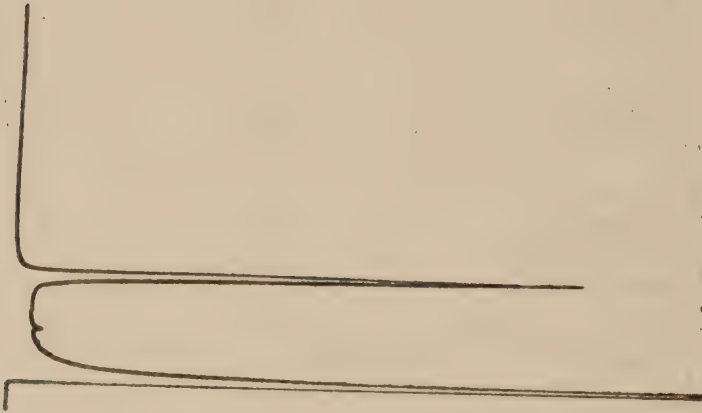


Abb. 19: EI-Spektrum von Cd-DEDTC.

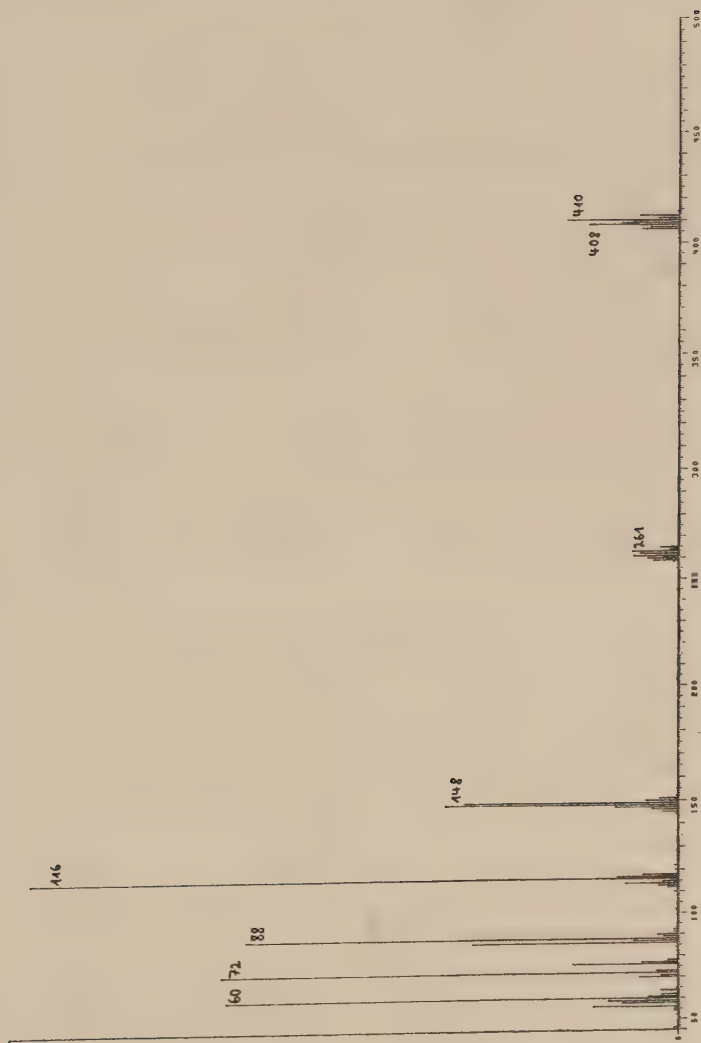


Abb. 20: Massenfragmente im EI-Spektrum des
Thallium-DEDTC.

<u>Chelat - Rest</u>	<u>Massenzahl</u>
$\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$	410
	408
$\text{Cd}-\text{DEDTC}$	363
	361
$\text{DEDTC}-\text{H}$	149
DEDTC	148
$(\text{Et})_2-\text{N}=\text{C}=\text{S}$	116
Cd	110-116
$\text{Et}-\text{N}-\text{C}=\text{S}$ H	88
$(\text{Et})_2\text{N}$	72
$\text{H}_2\text{N}=\text{C}=\text{S}$	60

3.5. Ein Anwendungsbeispiel: Thallium

3.5.1. Thallium

In neuerer Zeit spielt Thallium in der Toxikologie wieder eine wichtigere Rolle. Unter den akuten Schwermetallvergiftungen scheint die Thalliumintoxikation wieder zuzunehmen (14). Darüber hinaus wurde der Blick auch auf die hohe Belastung der Umwelt mit Schwermetallen gelenkt. In der Umgebung von Zementwerken wurden überhöhte Werte des Thalliumgehaltes festgestellt. Presseberichte, Anfragen von Abgeordneten und Stellungnahmen der zuständigen Ministerien folgten (38;45). Die Schwermetallforschung bildet einen der Schwerpunkte des Umweltschutzprogrammes der Landesregierung von Baden Württemberg (38).

Das ubiquitäre Vorkommen von Thallium macht bei der Beurteilung einer Probe besonders sorgfältiges Arbeiten notwendig (19). Meist sind gleichzeitig auch andere Metalle zu bestimmen. Die Vorteile einer möglichen gaschromatographischen Trennung und Bestimmung werden deutlich.

Thallium ist ein Schwermetall. Im Periodensystem der Elemente steht es in der dritten Nebengruppe. Vorkommen: in I- und III-wertigen Verbindungen. Tl I Verbindungen sind eher wasserlöslich als die relativ instabilen Tl III Verbindungen. Deshalb findet man bei Vergiftungen hauptsächlich Tl I.

Die Eigenschaft des Tl I, mit Halogenen wasserunlösliche Verbindungen einzugehen, bildet die Grundlage für den makrochemischen Nachweis (50).

Thallium wird verwendet zu Metallegierungen, zur Herstellung von optischen Gläsern, Spezialthermometern, Leuchtkörpern, Holzimprägnierung, Saatgutbeizung und - hauptsächlich - als Rodentizid (z.B. Zelio^R). In der Umgebung von Zementwerken kommt Thallium in erhöhtem Ausmaß vor, wenn die verwendeten Eisenoxyd-Zuschlagstoffe thalliumhaltig sind.

Atomgewicht: 204,37; F. 302,5°C ; Kp. ca. 1.457°C ; Thallium ist auf frischer Oberfläche lebhaft metallisch glänzend; es läuft an der Luft sofort grau an (9).

Thallium kommt in jedem menschlichen Körper vor. Nach MUELLER (47) stellten WEINIG und ZINK den physiologischen Gehalt an Thallium im menschlichen Körper fest. Dabei wurden Thalliumkonzentrationen von ca. 0,5mg/kg und 2mg/kg gemessen. Ebenso berichten GOENCHEA und SELIER (22) über den natürlichen Thalliumgehalt des menschlichen Körpers.

3.5.2. Thalliumvergiftung

Die Symptome einer Thalliumvergiftung werden in der Literatur (47;50) in folgender Weise beschrieben: Symptomfreie Latenzzeit von ein bis zwei Tagen. Übelkeit und Erbrechen möglich. Obstipation oder Diarrhoe. Parästhesien in den Akren. Kolikartige Bauchschmerzen in der Folge. Retrosternalschmerz. Sehr starke neuralgiforme Schmerzen an den Extremitäten. Hysterisches Jammern. Hypertonie und Tachykardie. Nach dem zehnten Tage Haarausfall. Stomatitis, Polyneuritis. Veränderungen im Aufbau von Haaren und Nägeln. Bei tödlicher Dosis Exitus in der 3. oder 4. Woche.

Die Wirkungsursachen sind nicht ganz klar. Diskutiert werden die Wirkung des Giftes auf das Zentralnervensystem, das periphere Nervensystem, auf bestimmte Proteine (Histamin, Laktoflavin) und auf das Vitamin B₂. In Summe also lokal, humoral, endokrin und zentral angreifende Komponenten.

Wirkdosis: Tödlich sind für den Erwachsenen, je nach individueller Empfindlichkeit, zwischen 0,5 und 3g. Dies entspricht 6 - 40mg/kg Körpergewicht. Bei Tieren konnte eine davon abweichende Empfindlichkeit festgestellt werden. Eine kumulative Wirkung ist möglich.

Giftstoffwechsel: Thallium wird sehr lange im Organismus festgehalten. Speicherung in den verschiedenen Organen in unterschiedlicher Menge. Bei

akuten Vergiftungen werden 10 - 100mg/kg in den Geweben gemessen. Bei chronischen Vergiftungen 1 - 10mg/kg. Giftaufnahme per os, durch die Haut und die Schleimhäute möglich. Die Giftausscheidung erfolgt durch die Nieren, den Darm und durch exkretorische Drüsen. Die über die Galle in den Darm ausgeschiedene Giftmenge wird teilweise wieder rückresorbiert.

Therapie der erkannten Thalliumvergiftung: Entfernung des noch nicht resorbierten Thalliums aus den ersten Giftwegen (Magenspülung, Bekämpfung der Verstopfung), Förderung der Thallium-Ausscheidung durch forcierte Diarrhoe, forcierte Diurese, extrakorporale Hämodialyse (14), Versuch der schnelleren Entgiftung des bereits resorbierten Thalliums (Gabe von Natriumjodid, Antidotum Metallorum Sauter, Natriumthiosulfat, Cysteamin). Versuche wurden auch gemacht mit Diäthylldithiocarbamidat, das intravenös appliziert wurde (47). Das Ergebnis dieser Versuche scheint jedoch nicht positiv gewesen zu sein. Die Verwendung von Eisen(III)hexacyanoferrat(II) (BerlinerBlau) wird empfohlen (47).

Der MAK-Wert 1974 für lösliche Thalliumverbindungen, berechnet als Thallium, beträgt $0,1\text{mg/m}^3$ (37).

Sektionsbefund nach Thalliumvergiftung: Wegen der meist langen Überlebenszeit von mehreren Tagen oftmals keine besondere Charakteristika. Histologisch werden eventuell im Zentralnervensystem Veränderungen vorgefunden.

3.5.3. Nachweis der Thalliumvergiftung

Das Schwermetall Thallium kann auf verschiedene Weisen nachgewiesen werden. Klassisch ist die Fällung als unlösliches Jodid, Chromat, Sulfid, Hydroxid oder Bromid (50).

Zur photometrischen Bestimmung des Thalliums werden verschiedene Reagentien benutzt, die mit Thallium Farbkomplexe bilden. Leukodiamantgrün-Essigsäure, Rhodamin B, Brillantgrün oder Methylviolet sind zu nennen.

Ferner sind oftmals gebraucht das Dithizon und das Natrium-Diäthylthiocarbamidat. NaDEDTC bildet mit Tl I einen weiß gefärbten Komplex, der mit organischen Solventien eine farblose Lösung bildet. Tl III-DEDTC-Chelate sind in festem und gelöstem Zustand charakteristisch gelb gefärbt. Über einen gaschromatographischen Nachweis dieses Chelatkomplexes findet sich u.W. in der Literatur kein Hinweis.

Eine sehr empfindliche Nachweismethode für Thallium ist die Polarographie (71). Probleme entstehen, wenn ein organischer Hintergrund nicht zur Gänze entfernt ist (33). Ferner darf nicht ein Metall von ganz ähnlichem Spannungspotential in der Probe vorliegen.

Spektrographische Verfahren, wie die Emissions-spektralanalyse (22;33) sind geeignet und sehr empfindlich.

Höchst empfindlich ist der Nachweis des Thalliums mittels der Atomabsorptionsspektrophotometrie (14; 23;24).

Massenspektrometrische Untersuchungen sind ebenso veröffentlicht (75).

Auch die Neutronenaktivierungsanalyse wird zum Thalliumnachweis angewendet (29).

3.5.4. Gaschromatographie des Thalliumchelats

Für Thallium liegt bezüglich Peakform und Peakfläche ein Optimum bei 230°C Ofentemperatur. Die übrigen gaschromatographischen Bedingungen wurden entsprechend der obigen Beschreibung gewählt.

Die Chelate dürfen nicht zu lange in gelöster Form stehen, da eine Zersetzung des Chelat-Körpers erfolgen kann. Es gelang uns nicht herauszufinden, von welchen Faktoren die Geschwindigkeit der Zersetzung abhängt.

Redox-Vorgänge zeigen sich z.B. bei der Thallium I-Chelat-Extraktion. Der Vorgang ist auch am Farbumschlag zu erkennen.

Ferner sind Konzentrationsveränderungen einer Probe durch teilweises Verdampfen des Lösungsmittels zu beachten. Daher wurden die Proben nach erfolgter Extraktion mit Chloroform eingedampft,

aber nicht sofort wieder in dem Diäthyläther-Äthylacetat-Gemisch gelöst. Dies geschah erst kurz vor der gaschromatographischen Untersuchung.

Frisch extrahierte Lösungen von Tl I-Chelaten ergeben zunächst nur einen Peak. Dieser Peak ist im Gaschromatogramm bei 230°C Ofentemperatur nach 1.30min zu sehen (Abb. 14).

Tl III-Chelat ergibt -frisch extrahiert- einen Peak, der nach 5.70min zu sehen ist (Abb. 15).

Läßt man die Lösung einige Zeit stehen, ergibt sich nach 3.90min ein dritter Peak. Die Lösung verändert sich bis zum Gleichgewicht der drei nachweisbaren Substanzen. Als auslösende Faktoren der nicht reproduzierbaren Veränderungen kommen Wasser- und Säurespuren in Frage. Eventuell hat auch die Glasoberfläche einen derartigen Einfluß.

Wenn die gelösten Chelate zu lange stehen, zeigen sich im Chromatogramm nur noch Zersetzungsprodukte.

Die Empfindlichkeit der Methode ist recht gut. Mit dem FID kann eine Thalliumlösung bis zu 250mg/l sicher nachgewiesen werden. Das sind bei einem Einspritzvolumen von 1µl eine Thalliummenge von 250pg Thallium. Mit dem NFID gelingt es, eine Nachweisgrenze von 50mg/l bzw. 50pg Tl zu erreichen.

Wenn bei der Herstellung der Probe ein Konzentrierungsschritt eingefügt wird, sind somit akute Vergiftungen ohne Problem nachzuweisen. Nach

RAUSCHKE (42) sind 0,6 bis 4mg/kg Körpergewicht tödlich.

Unter den untersuchten Metallen zeigte nur das Thallium in verschiedenen Oxidationsstufen gaschromatographisch trennbare Komplexe mit DEDTC.

Für unsere weiteren Schritte war interessant:

- welche Substanz ist als innerer Standard geeignet,
- wie ist das organische Material aufzuarbeiten,
- wie ist die Nachweisgrenze im organischen Material,
- in welcher Form liegt das Thallium nach einer Vergiftung im Körper vor.

Abb. 21: Gaschromatogramm von Tl, das sich im Sinne von Redox-Vorgängen verändert hat.

Bedingungen:

Säulenfüllung: 3% OV 101; Temperatur-Programm: s. u.

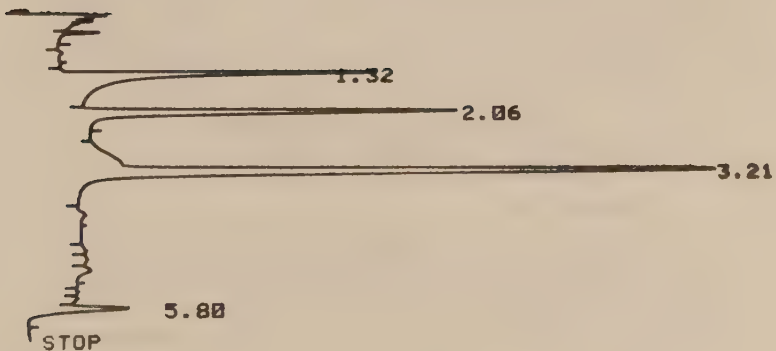
übrige Bedingungen: wie in Abb. 14 angegeben.

```

TEMP1      190  190
TIME1      0.0
RATE       15.00
TEMP2      270
TIME2      10.0
INJ TEMP   260  260
FID TEMP   300  300
OVEN MAX   301
  
```

```

CHT SPD    1.00
ATTN 2↑    12
FID SGNL   A
SLP SENS   0.00
AREA REJ   100
FLOW A     21
FLOW B     19
OPTN       0
7.0 STOP
  
```



3.5.5. Eichung

Nachdem festgestellt war, mit welcher Einstellung des Gerätes der Thalliumkomplex in bestmöglicher Weise nachweisbar ist, wurde versucht eine Methode zur exakten quantitativen Bestimmung auszuarbeiten.

Der Versuch den Thalliumkomplex auch aus dem organischen Medium zu extrahieren gelang. Dazu wurde eine Thalliummenge aus Urin nachgewiesen, der zusätzlich mit Medikamenten versetzt war.

Die ständigen Veränderungen des ein- und dreiwertigen Thalliums machten eine Eichung sehr schwierig. Die Veränderung in eine Abhängigkeit zu setzen gelang nicht. So wurde versucht das offensichtlich stabilere Tl III zu eichen.

Nicht einfach war die Wahl einer Substanz als innerer Standard. Es wurde von der Überlegung ausgegangen, daß am idealsten ein Metall wäre, das mit NaDEDTC extrahierbar ist und sich möglichst ähnlich wie Thallium verhält. Daher wurden Versuche mit Indium gemacht. Die Extraktion und der chromatographische Nachweis waren nicht möglich.

Ein Versuch mit Nickel brachte ebenso kein gutes Ergebnis. Das Gerät ist auf den Nickelkomplex erheblich empfindlicher. Es wird bei Nickel ein ca. 10 fach größerer Peak als beim Thallium erhalten. So stören ständig Verschleppungen des Nickelkomplexes.

Ein anderer organischer Stoff wurde gesucht. Er sollte mit Chloroform bei einem pH von 4,5 extrahierbar sein. Ferner sollte er bei einer Temperatur von 230°C etwa bei Kováts-Index 2.400 liegen. Diazepam wurde gewählt.

Zur Bestimmung über die Methode des inneren Standards wird Diazepam in einer Menge von 20mg/l zur Thallium-Urin-Probe hinzugefügt.

Das Chromatogramm wurde dann auf folgende Weise graphisch ausgewertet: Durch Tangentenbildung wurde die Grundlinie festgelegt. Für die quantitative Bewertung wurde die Peakhöhe herangezogen. Eine Auswertung über die Peakflächen brachte keine Verbesserung des Standard Errors.

Für das Peakhöhenverhältnis vom Thallium-III-Chelat zum Diazepam wurde die Regressionsgerade errechnet. Es ergab sich: $y = 0,068x - 0,27$. Für diese Gleichung betrug der Korrelationskoeffizient $r = 0,94$. Standard Error: 0,32. Anzahl der Messungen: $n = 15$. Der Konzentrationsbereich reichte von 50 - 500mg/l. Eine Abbildung der Eichkurve wird unten gezeigt.

Wie der Wert des Standard Errors zeigt, ist die quantitative Bestimmung des Thallium-Chelats nicht ganz einfach. Sicherlich ist das Ergebnis für andere Metalle, deren Chelate gaschromatographisch als einheitlicher Peak auftreten, das quantitative Ergebnis einer Bestimmung besser.

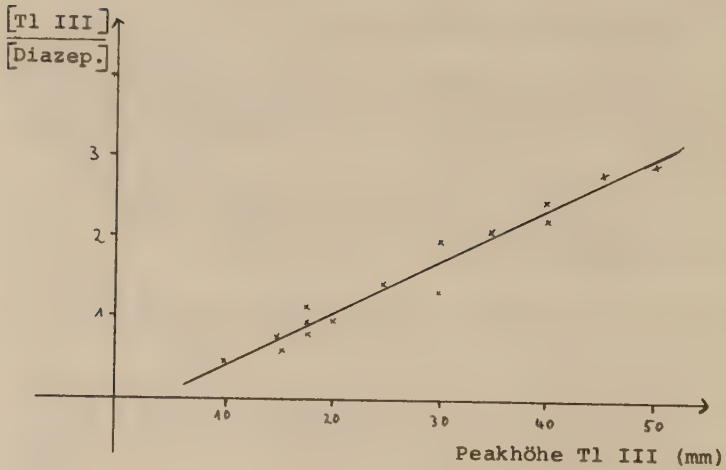
Abb. 22 : Eichkurve für Thallium III

Regressionsgerade: $y = 0,068x - 0,27$

Korrelationskoeffizient: 0,94

Standard Error: 0,32

Anzahl der Messungen: $n = 15$



3.5.6. Tierversuch

Um die Anwendbarkeit der Nachweismethode zu überprüfen, wurde ein Tierversuch durchgeführt. Insbesondere ist zu fragen, wie die Methode geht, wenn das Thallium tatsächlich vom lebenden Tier resorbiert worden ist. Die Möglichkeit, Tl I und Tl III zu unterscheiden, machte die Frage interessant, wie das Chromatogramm aussieht, nachdem mit Tl I die Vergiftung zugefügt worden ist.

Für den Versuch standen zwei Hunde der Rasse Beagle zu Verfügung.

Besonders erwünscht war die Möglichkeit, die Vergiftung - analog zu den Vorversuchen - direkt aus dem Urin nachzuweisen.

Die beiden Hunde befanden sich zu Beginn der Versuche in gutem Gesundheitszustand. Eine vorangehende Untersuchung zeigte keine Auffälligkeiten. Die Laborwerte waren gut.

Die Hunde wurden in zwei Stoffwechselkäfigen gehalten. Urin und Stuhl wurden täglich getrennt entnommen und gesammelt.

An einem der Hunde wurde in einem gleichzeitig ablaufenden, unabhängigen Versuch ein Therapeutikum gegen Vergiftung erprobt. Dieser Versuch störte in keiner Weise und machte die Proben-gewinnung für die eigene Methode erst möglich.

Den Hunden sollte eine akute Vergiftung zugefügt werden. Ein sofortiger letaler Ausgang war nicht erwünscht. Die Möglichkeit einer unvollständigen Resorption wurde mit in Betracht gezogen. Deshalb wurde die notwendige Menge des Giftes auf 15mg/kg Körpergewicht festgesetzt. Der eine Hund wog 5,6kg, der zweite 6,1kg. Thallium-I-nitrat stand als Substanz zur Verfügung. Es ist farb- und geschmacklos, in Wasser gut löslich.

Das Gift wurde in 10%-iger Lösung dem Fressen der Hunde hinzugefügt. Der erste Hund fraß sofort, der zweite erst im Laufe des Tages. Er beschnupperte das Fressen nur. Seine Nase oder sein Instinkt waren offensichtlich zu fein um sich täuschen zu lassen.

Nach einem Tag zeigten sich die ersten Vergiftungserscheinungen. Der erste Hund erbrach und hatte eine sehr starke Diarrhoe. Der zweite Hund wies diese Erscheinungen am Tag darauf ebenso auf. Es zeigten sich die typischen Vergiftungserscheinungen: das Verhalten war stark verändert. Heulen. Apathie. Rückenlage, um die Beine in die Luft zu halten. Lähmungserscheinungen. Beide Hunde nahmen keine Nahrung mehr auf.

Nach einer Woche wurde dem Leiden ein Ende gemacht. Die intravenöse Applikation von 10cm³ einer 10%-igen KCl-Lösung führt den Herztod herbei. Von dem KCl sind keine störenden Einflüsse bei der Probenuntersuchung zu erwarten.

Die verschiedensten Gewebe wurden entnommen. Die Diarrhoe und das Erbrechen der Hunde führten dazu, daß Kot, Urin und Erbrochenes sich vermischten. Dies machte einen Nachweis der Urinkonzentrationen leider unmöglich.

Die Messung des Thalliumgehaltes wurde an den Proben durchgeführt, die vom nicht medikamentös behandelten Hund entnommen wurden.

Vorschrift für die Probenaufarbeitung:

Ein Teil der Probe wird gewogen. Danach mit 0,2n Essigsäure-Acetatpuffer versetzt. Es genügt ein Verhältnis von 1:1. Dann wird alles homogenisiert.

Ein Teil des homogenisierten Materials wird entnommen und mit 1,5 Teilen 65%-iger Schwefelsäure in den Teflontiegel gegeben. Der Aufschluß erfolgt dann fünf Stunden lang bei 120°C. Danach wird ein kleiner Teil der Probe abgezweigt für die Kontrolluntersuchung im Atomabsorptionsspektrophotometer.

Eine exakt abgemessene Menge der verbleibenden Probe wird mit 10%-iger Natronlauge auf einen pH Wert von 4,5 eingestellt.

Dann wird Diazepam als innerer Standard hinzugefügt und zwar der Tl-Konzentration unserer Proben angemessen: 20mg/l Diazepam. Es folgt die Extraktion: Es wird frisch angesetzte NaDEDTC-Lösung hinzugegeben. Die NaDEDTC-Lösung ist wie beschrie-

ben so zu konzentrieren, daß der Chelatbildner in ca. 10fachem Überschuß vorliegt. Etwa 0,5 Minuten schütteln. Zugabe des Chloroforms in der selben Menge, wie die aufgeschlossene Probe. Dann muß wieder gründlich geschüttelt werden .

Die organische Phase wird abgehoben und bei 50°C im Vakuum der Wasserstrahlpumpe zur Trockne eingedampft.

Kurz vor dem gaschromatographischen Nachweis wird der erhaltene Rückstand wieder in dem Gemisch aus 70% Äthylacetat und 30% Diäthyläther gelöst. Dazu kann weniger Lösungsmittel als zur Extraktion genommen werden. So kann die Probe konzentriert werden.

Ergebnis:

Die Gaschromatographie der Proben wurde nach der oben angeführten Methode vorgenommen.

In allen Proben kamen die auch in den Voruntersuchungen aufgetauchten drei Tl-Peaks vor. Nachdem es nicht gelungen war, das Thallium vollständig, d.h. das einwertige und dreiwertige Thallium getrennt zu eichen, sind die quantitativen Ergebnisse der gaschromatographischen Untersuchung von beschränktem Wert.

In allen Ergebnissen waren alle drei Peaks vorzufinden. Ob die Veränderung des resorbierten Thalliums vom einwertigen zum dreiwertigen erst bei der Probenherstellung oder schon im Organismus geschehen war, konnte nicht festgestellt werden.

Nach Auswertung der Bestimmung des Thallium III-Komplexes mit dem Gaschromatographen ergibt sich für den nicht behandelten Hund:

Niere: 172mg/kg Tl III-Komplex

Leber: 65mg/kg Tl III-Komplex

Zur Kontrolle, die Werte der Untersuchung mit dem Atomabsorptionsspektrophotometer:

Niere: 495mg/kg Gesamt-Thallium

Leber: 105mg/kg Gesamt-Thallium

Die Ergebnisse zeigen, daß die gaschromatographische Untersuchung mittels des Chelatbildners NaDEDTC für eine quantitative Bestimmung des Thalliumgehaltes nicht ausreichend genau ist.

Die Ursache liegt möglicherweise darin, daß durch Aufspaltung des Thalliums in verschiedene Komplexe eine unkontrollierbare Menge verloren geht. Andererseits sind die beiden anderen zu erhaltenden Peaks nicht in solcher Weise reproduzierbar, daß eine quantitative Eichung möglich ist.

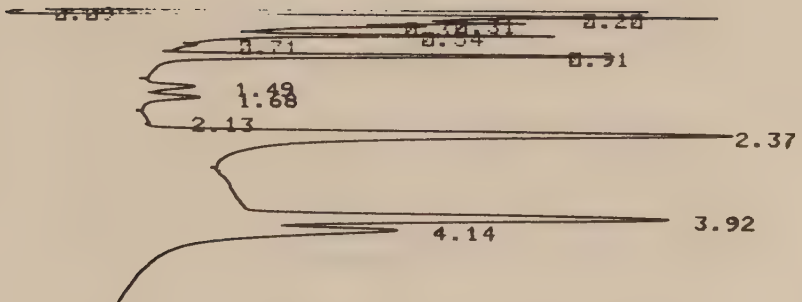
Ferner ist auffallend, daß der Gaschromatograph nicht auf alle Metallchelate gleich empfindlich ist. Auf Thallium reagiert er relativ unempfindlich. Verluste sind sicherlich durch die Benetzung von Instrumenten und Behältern nicht zu vermeiden. Ein wesentlicher, unsicherer Schritt ist die notwendige Konzentrierung.

Abb. 23: Gaschromatogramm einer Tl-Extraktion
aus der Leber eines vergifteten Hundes.

Bedingungen:

Wie in Abb. 21 angegeben.

Innerer Standart: Diazepam (20mg/l), 4,14min.



4. S C H L U S S B E T R A C H T U N G

In den letzten Jahren sind einige Arbeiten zur Gaschromatographie von Metallchelaten erschienen (10; 15; 21; 49; 52; 62). Die vorliegende Arbeit stellt erstmalig den Versuch dar, diese Methode auf biologisches Material anzuwenden.

Es ist möglich, unter den angegebenen Bedingungen, die Chelatkomplexe vieler toxikologisch interessanter Schwermetalle nachzuweisen. Eine qualitative und quantitative Analyse aus organischen Proben ist auf vergleichbar leichte Weise möglich.

Verschiedene Schwierigkeiten treten auf. So ist die Wahl des Lösungsmittels noch nicht ganz befriedigend. Die Arbeitsbedingungen am Gaschromatographen müssen mit größter Sorgfalt optimiert werden. Der Zerfall des Komplexes findet einige Zeit nach seiner Lösung statt, ohne daß die Ursachen eruiert werden konnten. Nicht alle Metalle, die mit NaDEDTC Chelate bilden, konnten auch chromatographisch nachgewiesen werden.

Beim Anwendungsbeispiel des Thalliums ergaben sich aus den besonderen Möglichkeiten auch besondere Schwierigkeiten. Beide Wertigkeitsstufen bilden mit NaDEDTC verschiedene Komplexe die im Gaschromatographen unterscheidbar sind. Nach kurzer Zeit stellt sich ein Gleichgewicht der verschiedenen Komplexe ein. Es war nicht möglich, die auslösenden Faktoren

und den Ablauf dieser Vorgänge darzustellen. Stets war in den Proben nach kurzer Zeit auch ein dritter Peak zu beobachten. Dieser Peak liegt zeitlich zwischen dem Tl I - und dem Tl III Chelat. Wir vermuten hierin ein Tl Chelat mit zwei DEDTC-Resten.

Da die Tl-Proben einer langsamen Veränderung unterliegen, ist eine Eichung des reinen I - oder III wertigen Thalliums nicht exakt möglich. Wir versuchten die Eichung des relativ stabileren Tl III Chelats. Ein Versuch mit Indium als innerer Standard war nicht erfolgreich. Sicher ist ein Metall, das sich ganz ähnlich wie Thallium verhält, als ideal anzusehen. Wir mußten auf Diazepam zurückgreifen. Die Messung wurde mit dem Atomabsorptionspektrophotometer als Referenzmethode verglichen. Die Ergebnisse sind noch nicht befriedigend. Aber es zeigte sich auch, daß Erwartungen nicht unberechtigt sind.

Bei Metallen, die nicht verschiedene Wertigkeitsstufen haben oder deren verschiedene Wertigkeitsstufen nicht mit NaDEDTC unterschiedliche Komplexe bilden, ist die Anwendung erheblich leichter. Weitere Verbesserungen wären zu erreichen, wenn ein Metall als innerer Standart verwendet werden könnte. Ganz wesentlich ist auch die Verbesserung, die durch die Verwendung fluorierter Carbamidate zu erzielen ist. Auch die Verwendung anderer Säulenfüllmaterialien könnte noch Fortschritte bringen.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die vorgestellte Methode zum Nachweis von Schwermetallen aus biologischem Material bezüglich ihrer Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit mit anderen gebräuchlichen Methoden, z.B. der flammenlosen Atomabsorptionsspektrophotometrie, noch nicht konkurrieren kann. Durchaus aber mit der Emissionsanalyse oder Flammen - Atomabsorptionsspektrophotometrie.

Die Chelat-Gaschromatographie steht ganz am Anfang ihrer Entwicklung. Die Aussichten dieser Methode sind sehr gut. Die Vorteile sind überzeugend. Fortschritte sind weiterhin möglich. Um diesem Optimismus Nachdruck zu verleihen, sei auf die unzähligen Arbeiten verwiesen, die erscheinen mußten, bis z.B. die Atomabsorptionsspektrophotometrie ausgereift war.

5. Z U S A M M E N F A S S U N G

In der vorliegenden Arbeit wird über die gaschromatographische Bestimmung von Schwermetallen aus biologischem Material berichtet. Für die eigenen Versuche wurde als Chelatbildner das Natrium-Diäthyl-dithiocarbamidat verwendet. Herstellung, Eigenschaften und Anwendung dieses Chelatbildners werden besprochen.

Chromatographische Trennverfahren und Nachweismethoden in der Spurenelementanalyse werden unter spezieller Berücksichtigung des NaEDTC besprochen.

Die Gaschromatographie verschiedener Schwermetalle wird beschrieben. Die Ergebnisse massenspektrophotometrischer Untersuchungen werden gezeigt. Gute gaschromatographische Untersuchungen gelangen mit: 5% OV 101 auf Chromosorb W HP 80/100 mesh. 100 cm Säulenlänge. Helium als Trägergas. Temperatur: Ofen: 230°C bis 280°C; Einspritzblock: 260°C; Detektor: 300°C. Äußerst sorgfältiges Konditionieren der Säule ist wichtig.

Der Chelatkörper wurde mit Chloroform extrahiert, schonend getrocknet und in einem Gemisch von Diäthyläther und Äthylacetat wieder gelöst.

Der Kováts-Index verschiedener Metall-Chelate wird angegeben.

Am Beispiel des Thalliums wird die Anwendbarkeit der Methode demonstriert. Dabei werden besondere Möglichkeiten und Schwierigkeiten, die bei diesem Metall bestehen, aufgezeigt. Nachweisgrenze: 50pg Thallium.

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- (1) AHMAD, M.; AZIZ, A.:
Gas chromatography of metal diethyldithiocarbamates with electron-capture detection. J. Chromatography 152, 542 (1978).
- (2) BÄCHMANN, K.:
Spurenanalyse durch Gaschromatographie anorganischer Verbindungen, Mainz 1979, GDCh-Kurs.
- (3) BÄUMLER, J.; RIPPSTEIN, S.:
Zur Mikroquecksilberbestimmung. Mitteilungen aus der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene. Veröffentlicht von Eidg. Gesundheitsamt Bern. 54, 472 (1963).
- (4) BALLSCHMITER, K.:
Chromatographie von Metall-Chelaten. I. Dünnschichtchromatographische Trennung substituierter Dithiocarbamate: Chelate des Diäthylthiocarbamidats. Z. Anal. Chem. 254, 348 (1973).
- (5) BALLSCHMITER, K.:
Chelate mit Diimin- und Thiol-Struktur: Analytische Anwendung der Di-(4-substituierten)-thiosemicarbazone von 1,2- und 1,3-Diketonen. Z. Anal. Chem. 263, 203 (1973).
- (6) BERNDT, H.; JACKWERTH, E.:
Beitrag zur Multielement-Anreicherung aus Chrom (III)-Salzen mit Hexamethylammonium-hexamethylendithiocarbamidat. Z. Anal. Chem. 290, 369 (1978).

- (7) BODE, H.:
Systematische Untersuchungen
über die Anwendbarkeit der
Diäthylthiocarbamate in der
Analyse. IV. Mitteilung. Z. Anal.
Chem. 144, 165 (1955).
- (8) BRANDENBERGER, H.; FRANGI-SCHNYDER, D.;
LÜSSI-SCHLATTER, B.; RECHENBERG, H. v.:
Gas chromatography with mass
specific detection (GC-MD) as
tool for the trace analysis of
inorganic ions. Forensic Sci. 5,
109 (1975).
- (9) BRAUER, G.:
Handbuch der präp. anorg. Chemie,
Stuttgart 1978.
- (10) CARDWELL, T. J.; DESARRO, D. J.; UDEN, P. C.:
Gas Chromatography of some
Volatile Metal Diethylthio-
carbamates. Anal. Chem. Acta 85,
415 (1976).
- (11) DAUGHTREY, E. H.; FITCHETT, A. W.; MUSHAK, P.:
Measurements of Inorganic and
and Methyl Arsenicals by Gas-
Liquid Chromatography. Anal. Chim.
Acta 79, 199 (1975).
- (12) DORNEMANN, A.; KLEIST, H.:
Schnelles Verfahren für die
Extraktion von Schwermetall-
Nanospuren aus wäßrigen Lösungen.
Z. Anal. Chem. 291, 349 (1978).
- (13) DORNEMANN, A.; KLEIST, H.; GÖRGENS, W.:
Extraktion von Nanospuren
Cadmium aus wäßrigen Lösungen.
Z. Anal. Chem. 284, 97 (1977).
- (14) DRASCH, G.; HAUCK, G.:
Verlaufskontrolle der Intensiv-
therapie von Thalliumintoxi-
kationen. Arch. Toxicol. 38, 209
(1977).

- (15) DRASCH, G.; MEYER, L. v.; KAUERT, G.:
The Detektion of Heavy Metals
from Biological Material by Gas-
Liquid-Chromatography via the
Diethyldithiocarbamates. Vortrag
Europ. Meeting of TIAFT, 1979,
Glasgow, Angen, z. Publ.
- (16) DRASCH, G.; MEYER, L. v.; KREGLINGER, R.:
Untersuchungen zum Bleigehalt
menschlicher Knochen. Arbeits-
medizin, Sozialmedizin, Präventiv-
medizin 14, 32 (1979).
- (17) FLEGLER, B.; GEMMER-COLOS, V.; DENCKS, A.; NEEB, R.:
Verteilungsverhalten einiger
Diethyldithiophosphinatochelate:
Anwendung zur gaschromatogra-
phischen Bestimmung des Cad-
miums. Talanta 26, 761 (1979).
- (18) FRIES, J.; GETROST, H.:
Organische Reagenzien für die
Spurenanalyse, Darmstadt 1975.
- (19) GEILMANN, W.; BEYERMANN, K.; NEEB, K. H.; NEEB, R.:
Thallium, ein unregelmäßig vor-
handenes Spurenelement im
tierischen und pflanzlichen
Organismus. Biochem. Z. 333, 62
(1960).
- (20) GELDMACHER-v. MALLINCKRODT, M.; POOTH, M.:
Gleichzeitige spektrographische
Prüfung auf 25 Metalle und
Metalloide in biologischem
Material. Arch. Toxikol. 25, 5 (1965).
- (21) GEMMER-COLOS, V.; NEEB, R.:
Dialkyldithiocarbamate als Rea-
genzien zur gas-chromatographi-
schen Bestimmung von Metallen.
II. Bestimmung von Zink, Kupfer
und Nickel als Dipropyldithio-
carbamatochelate nach Ausschlü-
ßeln aus wäßrigen Lösungen.
Z. Anal. Chem. 293, 290 (1978).

- (22) GOENECHA, S.; SELLIER, K.:
Über den natürlichen Thallium-
gehalt des menschlichen Körpers.
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 60, 135
(1967).
- (23) HAGEDORN-GÖTZ, H.; STOEPLER, M.:
Zum forensischen Nachweis von
Thallium in menschlichen Haaren
durch flammenlose Atomabsorp-
tionsspektrometrie. Arch. Toxicol.
34, 17 (1975).
- (24) HAUCK, G.:
Ein einfacher, empfindlicher
Nachweis von Thallium. Dtsch.
Z. ges. gerichtl. Med. 51, 570 (1961).
- (25) HAUCK, G.:
Erfahrungen mit der flammenlo-
sen Atomabsorption bei der Unter-
suchung biologischem Materials
auf Spuren von Schwermetallen.
Z. Anal. Chem. 267, 337 (1973).
- (26) HEIZMANN, P.; BALLSCHMITER, K.:
Analytische Anwendung der Di-
thiobenzhydrazone von 1,2-Dike-
tonen. Z. Anal. Chem. 259, 110.
- (27) HEIZMANN, P.; BALLSCHMITER, K.:
Chromatography of Metal Chelates.
VI. High Performance Liquid Solid
Chromatography of Metal Chelates
of Diacetyl-bis-thiobenzhydra-
zone. Z. Anal. Chem. 266, 206 (1973).
- (28) HEIZMANN, P.; BALLSCHMITER, K.:
Chromatography of Metal Chelates.
VII. High Performance Liquid
Chromatography of Metal 1,2-Di-
ketobisthiobenzhydrazones, Metal
Dialkyldithiocarbamates and Metal
1,2-Diketobisthiosemicarbazones.
J. Chromatogr. 137, 153 (1977).

- (29) HLNKE;FITZEK:
Der Nachweis von Thalliumver-
giftungen durch Neutronenakti-
vierungsanalyse. Arch. Toxicol.
27, 266 (1971).
- (30) IGUCHI, M.; NISHYAMA, A.; NAGASE, Y.:
Application of gaschromatography
to pharmaceutical analysis.
J. Pharm. Soc. Japan. 80, 1408 (1960).
- (31) KAISER, G.; GRALLATH, E.; TSCHÖPEL, P.; TÖLG, G.:
Beitrag zur Optimierung der
chelat-gas-chromatographischen
Berylliumbestimmung in organi-
schen Matrices bei begrenzter
Einwaage. Z. Anal. Chem. 259, 257
(1972).
- (32) KLEINMANN, A.; NEEB, R.:
Gas-chromatographische Trennung
und Bestimmung einiger Kationen
als Diäthylidithiophosphinato-
chelat. Z. Anal. Chem. 285, 107 (1977).
- (33) KOCH, O.; KOCH-DEDIC, G. A.:
Handbuch der Spurenanalyse,
2. Aufl. 1974, Bd. I. u. II, Berlin,
Heidelberg, New York.
- (34) KOLB, B.:
Gas-Chromatographie-Instrumenta-
tion und Arbeitsweisen. Seifen,
Öle, Fette, Wachse. Hefte 12, 14, 16
(1970).
- (35) KÖNIG, K.; BECKER, J.; HENKE, W.; STENSHORN, J.;
WERNER, H.; BALLSCHMITER, K.:
Chromatographie von Metall-
chelaten. III. Dünnschicht-chro-
matographische Trennung di-sub-
stituierter Dithiocarbamate. Z.
Anal. Chem. 259, 11 (1972).
- (36) KOVÁTS, E. sz.:
Zusammenhänge zwischen Struktur
und gaschromatographischen Daten
organischer Verbindungen. Z. Anal.
Chem. 181, 351 (1961).

- (37) KRUSE, R.; RÜSSEL, H. A.:
Gas-chromatographische Bestimmung des Arsens als Trimethylsilylarsenat in biologischem Material. Z. Anal. Chem. 286, 266 (1977).
- (38) LANDTAG VON BADEN-WÜRTTEMBERG:
7. Wahlperiode, Drucksache 7/6462
Drucksache 7/6432
Drucksache 7/6588
- (39) LAUWERYS, R. R.; BUCHET, J. P.; ROELS, H.:
The Determination of Trace Levels of Arsenic in Human Biological Materials. Arch. Toxicol. 41, 239 (1979).
- (40) LOHMÜLLER, M.; HEIZMANN, P.; BALLSCHMITER, K.:
Chromatography of Metal Chelates. VIII. High-Performance Liquid Chromatography of Metal Dithizonates. J. Chromatogr. 137, 165 (1977).
- (41) LÜSSI-SCHLATTER, B.; BRANDENBERGER, H.:
Trace detection of arsenic by gas-chromatography with mass-specific detection (GC-MD). Z. Klin. Chem. Biochem. 12, 224 (1974).
- (42) LÜSSI-SCHLATTER, B.; BRANDENBERGER, H.:
Trace Detection of some Inorganic Hydrides such as Arsine, Germanium Hydride, Stibine and Tin Hydride by Gas Chromatography with Mass Specific Detection (GC-MD). Adv. in Mass-Spectrometry in Biochemistry and Medicine. Vol. II, S. 231, Spectrum Publ. Inc. 1976.
- (43) MACHATA, G.:
Die Berechnung der Retentionsindices mit dem Taschenrechner, HP 65. Z. Rechtsmedizin 79, 193 (1977).
- (44) MACHATA, G.; BINDER, R.:
Bestimmung von Blei-, Thallium-, Zink- und Cadmiumspuren in biologischem Material mittels flammenloser Atomabsorption. Z. Rechtsmedizin 73, 29 (1973).

- (45) MINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND
UMWELT BADEN-WÜRTTEMBERG:
Persönliche Mitteilung des
Ministers vom 28.12.1979.
- (46) MOSINGER, M.; FIORENTINI, H.:
Intoxication expérimentale par le
thallium. Ann.Méd.lég.38,251(1958)
- (47) MUELER, B.:
Gerichtliche Medizin, 2.Aufl.,
Berlin 1975.
- (48) MULFORD, C.E.:
Anwendung der Lösungsmittel-ex-
traktion in der AAS.Analysen-
technische Berichte 1967, Heft 9
Bodenseewerk Perkin Elmer.
- (49) NEEB, R.:
1. Gaschromatographie organischer
Stoffe - Einführung und Überblick.
2. Gaschromatographische Bestim-
mung von Metallen über ihre
flüchtigen Chelate, Mainz 1979.
GDCh-Kurs.
- (50) RAUSCHKE, J.:
Thallium, in: PONSOLD, A.: Lehrbuch
der gerichtlichen Medizin, 3.Aufl.
Stuttgart 1967.
- (51) RODRIQUEZ-VAZQUEZ, J.A.:
Quantitative inorganic Analysis
by Gas Chromatography, A Review.
Anal.Chim.Acta 73,1(1974).
- (52) RUSSEL, H.A.:
Gas-chromatographische Fluorbe-
stimmung in Organmaterial und
Körperflüssigkeiten. Z.Anal.Chem.
252,143(1970).
- (53) RUSSEL, H.A.:
Persönliche Mitteilung vom 13.9.
1979.

- (54) SCHNEIDER, H.; NEEB, R.:
Gas-chromatographische Element-
analyse über Di(trifluoräthyl)di-
thiocarbamatochelate.
III. Beständigkeit und Vertei-
lungsverhalten des Chelatbildners.
Z. Anal. Chem. 292, 203 (1978).
- (55) SCHNEIDER, H.; NEEB, R.:
Gas-chromatographische Element-
analyse über Di(trifluoräthyl)di-
thiocarbamatochelate.
IV. Die Verteilung der Di(tri-
fluoräthyl)dithiocarbamate des
Cu(II), Ni(II), Co(III), Fe(III),
Bi(III), Pb(II) und Sb(III)
zwischen wässrigen Lösungen und
Chloroform.
Extraktive gas-chromatographische
Simultanbestimmung von Blei und
Wismut. Z. Anal. Chem. 293, 11 (1978).
- (56) SCHOMBURG, G.:
Gaschromatographie, 1. Aufl.,
Weinheim 1977.
- (57) SCHUPHAN, I.; BALLSCHMITER, K.; TÖLG, G.:
Polychlorierte Verbindungen und
ihre Verwendung zur gas-chroma-
tographischen Bestimmung von
Elementen im ng-Bereich.
I. Polychlorierte Xantogenate und
ihre Anwendung zur Nickel-Bes-
timmung. Z. Anal. Chem. 255, 116
(1971).
- (58) SCHUPHAN, J.; BALLSCHMITER, K.:
Polychlorierte Verbindungen und
ihre Verwendung zur gas-chroma-
tographischen Bestimmung von
Elementen im ng-Bereich.
II. Polychlorierte Dithiocar-
bamate. Z. Anal. Chem. 262, 183 (1972).
- (59) SEILER, H.:
Anorganische Ionen, in: STAHL, E.:
Dünnschicht-Chromatographie,
2. Aufl., Berlin 1967.

- (60) SCHWEDT, G.; RÜSSEL, H. A.:
Gas-chromatographische Bestimmung von Arsen als Triphenylarsan. Chromatographia 5, 242 (1972).
- (61) SCHWEDT, G.:
Anorganische Spurenanalyse mit der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie am Beispiel des Selens. Z. Anal. Chem. 288, 50 (1977).
- (62) TAVLARIDIS, A.; NEEB, R.:
Gas-Chromatographische Multielementanalyse mit einfachen und fluorierten Diäthylthiocarbamaten. Z. Anal. Chem. 282, 17 (1976).
- (63) TAVLARIDIS, A.; NEEB, R.:
Dialkyldithiocarbamate als Reagenzien zur gas-chromatographischen Bestimmung von Metallen. I. Thermisches Verhalten, Dampfdrucke und Gas-Chromatographie einiger Dialkyldithiocarbamatochelat. Z. Anal. Chem. 293, 211 (1978).
- (64) TAVLARIDIS, A.; NEEB, R.:
Gas-chromatographische Elementanalyse über Di(trifluoräthyl)dithiocarbamatochelat. I. Thermogravimetrisches Verhalten und Dampfdrucke einiger Di(trifluoräthyl)dithiocarbamatochelat. Z. Anal. Chem. 292, 135 (1978).
- (65) TAVLARIDIS, A.; NEEB, R.:
Gas-chromatographische Elementanalyse über Di(trifluoräthyl)dithiocarbamatochelat. II. Das gas-chromatographische Verhalten einiger Di(trifluoräthyl)dithiocarbamatochelat. Z. Anal. Chem. 292, 199 (1978).

- (66) TAVLARIDIS, A.:
Dialkyldithiocarbamate als
Reagenzien zur gaschromatogra-
phischen Spurenanalyse von
Kationen, Mainz 1979, GDCh-Kurs.
- (67) THORN, G.D.; LUDWIG, R.A.:
The Dithiocarbamates and related
compounds. Elsevier Publishing
Company, Amsterdam, New York (1962).
- (68) VILLA, J.F.; CHATFIELD, D.A.; BURSEY, M.M.;
HATFIELD, W.E.:
Effects of Metal-Ligand Charge
Transfer on the Mass Spectra of
Bis (N,N-diethyldithiocarbamate)
Complexes. An Application of the
Shannon-Swan Rule.
Inorg. Chim. Acta 11, 332 (1972).
- (69) VYCUDILIK, W.:
Die Anwendung des Stickstoff-
detektors zur Arsenbestimmung
in biologischem Material.
Arch. Toxicol. 36, 177 (1976).
- (70) WALDI, D.:
Dünnschichtchromatographie.
IV. Metallgifte, in: GRAF, E.;
PREuß, R.: Gadamer's Lehrbuch der
chemischen Toxikologie und An-
leitung zur Ausmittelung der
Gifte, 5. Aufl., Bd. II, Göttingen
1966.
- (71) WEINIG, E.:
Die polarographische Bestim-
mung des Thalliums in Leichen-
teilen. Dtsch. Z. ges. gerichtl.
Med. 38, 199 (1943).
- (72) WEINIG, E.; SCHMIDT, G.:
Über den Konzentrationsabfall
des Thalliums im Harn bei sub-
letaler Vergiftung am Menschen.
Beitr. gerichtl. Med. 22, 331 (1962)

- (73) WEINIG,E.;SCHMIDT,G.:
Zur Verteilung des Thalliums
im Organismus bei tödlichen
Thalliumvergiftungen.Arch.
Toxicol.21,199 (1966).
- (74) WEINIG,E.;WALZ,W.:
Die Thalliumverteilung in Niere
und Leber bei letalen Tl-Ver-
giftungen.
Arch.Toxicol. 27,217 (1971).
- (75) WEINIG,E.;ZINK:
Über die quantiative massenspek-
trometrische Bestimmung des
normalen Thalliumgehaltes im
menschlichen Organismus.
Arch.Toxicol. 22,255 (1967).

Lebenslauf

Name:	Maier, Karlheinz
geboren:	17. April 1955 in Aulendorf, Kreis Ravensburg
Eltern:	Maier, Karl-Heinz, Masseur und Maria, geb. Huchler, Masseurin
1962-1966	Volksschule Aulendorf
1966-1974	Humanistisches Gymnasium Salvatorerkolleg Bad Wurzach
1974	Reifeprüfung am 24.6.1974
1974-1980	Studium der Zahnmedizin an der Ludwig Maximilians-Universität München
1975	Naturwissenschaftliche Vorprüfung
1977	Zahnärztliche Vorprüfung
1980	Zahnärztliche Prüfung am 30.7.1980

